

**In-Vivo-Untersuchungen zur Biokompatibilität und  
mechanischen Stabilität von bakteriell synthetisierter  
Nanocellulose als Hernienimplantat und  
Bauchwandersatz im Rattenmodell**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades

**doctor medicinae**

(Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Julian Helble

geboren am 24.02.1986 in Heidelberg

### Gutachter

1. PD Dr. med. Hubert Scheuerlein, Universitätsklinikum Jena
2. Univ.-Prof. Dr. med. Rolf Kalff, Universitätsklinikum Jena
3. Prof. Dr. med. habil. Frank Marusch, Ernst von Bergmann Klinikum Potsdam

Tag der öffentlichen Verteidigung: 02.06.2015

Meinen Eltern in großer Dankbarkeit gewidmet

**Inhaltsverzeichnis**

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>VI</b>
<b>Zusammenfassung</b>	<b>VIII</b>
<b>1. Einleitung: allgemeine Grundlagen und aktueller Stand der Forschung</b>	<b>10</b>
1.1 Inzidenz der verschiedenen Hernienarten und Rezidivproblem	10
1.2 Techniken in der operativen Hernienversorgung	11
1.2.1 Leistenhernie	11
1.2.2 Narbenhernie	12
1.2.3 Bridging und Bauchwandersatz	14
1.3 Bisher gebräuchliche Materialien	15
1.3.1 Hernienchirurgie	15
1.3.2 Bauchwandersatz	22
1.4 Biokompatibilität	24
1.5 Aktuelle Problemstellungen der Hernienchirurgie	28
1.6 Materialinnovation: Bakteriell synthetisierte Nanocellulose	29
<b>2. Ziele der Arbeit</b>	<b>32</b>
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>33</b>
3.1 Bakteriell synthetisierte Nanocellulose	33
3.2 Studiendesign und Pilotversuch	33
3.3 Tierversuchsmodell	34
3.3.1 Versuchstiere und Haltebedingungen	34
3.3.2 Operatives Vorgehen	35
3.3.3 Postoperative Betreuung und Verlaufskontrolle	40
3.3.4 Ultraschalluntersuchungen	42
3.3.5 Versuchsende	44
3.3.6 Mechanische Testung	51
3.3.7 Histologische Analysen	52
3.4 Statistik	56
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>57</b>
4.1 Versuchs- und Kontrollgruppen	57
4.2 Postoperativer Verlauf (Gewichtsverlauf, Aktivitätsscore)	57
4.3 Ultraschalluntersuchungen	61
4.4 Entnahmeprotokoll	63



---

4.4.1 Makroskopische Gewebeintegration	63
4.4.2 Lokale Entzündungsreaktion	63
4.4.3 Serombildung	64
4.4.4 Adhäsionsbeurteilung (modifizierter Vandendael-Score)	64
4.4.5 Materialschrumpfung	65
4.5 Mechanische Zugprüfung	65
4.6 Histologische Analysen	70
<b>5. Diskussion</b>	<b>84</b>
<b>6. Schlussfolgerungen</b>	<b>97</b>
<b>7. Literatur- und Quellenverzeichnis</b>	<b>99</b>
<b>Lebenslauf</b>	<b>X</b>
<b>Ehrenwörtliche Erklärung</b>	<b>XI</b>
<b>Danksagung</b>	<b>XII</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

<b>Abkürzung</b>	<b>Bedeutung</b>
Abb.	Abbildung
ASDCL	Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase
BNC	bakteriell synthetisierte Nanocellulose
BWE	Bauchwandersatz
BrdU	Bromdesoxyuridin-Färbung
CD 68	Cluster of differentiation, Glykoprotein zur Makrophagen-Markierung
c-myc	Protoonkogen
dL	erreichte Dehnung (in mm) bei F max
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EK	Einzelknopf
ePTFE	expandiertes Polytetrafluorethylen
EvG	Elastica-van-Gieson-Färbung
F max	maximale Kraft (in N), bei der eine Probe reißt
HE (-Färbung)	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HoLiR	Horizontal-Lift-Reaktors
IPOM	Intraperitoneal Onlay Mesh
Ki67	monoklonale Antikörper, zelluläre Marker für Proliferation
kN	Kilonewton
LE	Längeneinheit
LESS	Laparoendoscopic single-site surgery
M.	Musculus
MAS	Minimal Access Surgery
mV-Score	modifizierter Vandendael-Score
mRNS	messenger Ribonukleinsäure
N	Newton
NaCl	Natrium-Chlorid
Nm	Newtonmeter
NOTES	Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery
OP	Operation
PAS	Perjodsäure-Schiff-Reaktion

---

PCR	Polymerase Chain Reaction
PP	Polypropylen
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVDF	Polyvinylidenfluorid
RGD	Aminosäuresequenz aus Arginin, Glycin und Asparagin, im Einbuchstabencode RGD, Zelladhäsionsprotein
s.c.	subcutan
SILS	Single Incision Laparoscopic Surgery
Tab.	Tabelle
TAPP	transabdominelle Patchplastik
TEPP	total extraperitoneale Patchplastik
TGF- $\beta$	Transforming growth factor beta
US	Ultraschall
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

## Zusammenfassung

Hernien sind aufgrund ihres häufigen Vorkommens und der damit verbundenen enormen volkswirtschaftlichen Bedeutung Objekt intensiver Forschung. Das Hauptproblem der Hernienchirurgie bestand lange in der hohen Rezidivrate, die mit dem Einzug synthetischer Materialien (wie z. B. Polypropylen) deutlich gesenkt werden konnte. Allerdings zieht die Verwendung dieser synthetischen Materialien eine Reihe neuer, wenn auch seltener, Komplikationen wie beispielsweise Adhäsionen, netzassoziierte Infektionen und chronische Schmerzsyndrome nach sich. Auf der Suche nach dem „idealen“ Netz, das sowohl eine möglichst gute Biokompatibilität als auch eine ausreichende mechanische (Langzeit-)Stabilität aufweist, wurde die Wertigkeit und das Potential des neuen, von Bakterien (*Gluconacetobacter xylinus*) synthetisierten Materials „bakteriell synthetisierte Nanocellulose“ (BNC) als Hernienimplantat und Bauchwandersatz (BWE) untersucht.

In der hier vorliegenden Studie wurden 20 männliche Lewis-Ratten in zwei gleichgroße Gruppen eingeteilt. Den Tieren der ersten Gruppe wurde in Sublay-Position ein 4 cm x 1 cm BNC-Implantat in beide Rektusscheiden eingelegt. Der zweiten Gruppe wurde nach einer vollwandigen Bauchwandresektion (kreisrunder Defekt mit Ø 2 cm) ein kreisrundes BNC-Patch (Ø 22 mm) im Sinne einer Inlay-Plastik implantiert. Nach einem Versuchszeitraum von 90 Tagen wurden beide Gruppen hinsichtlich Gewebeintegration, Adhäsionsbildung, Netzschrumpfung, Fremdkörperreaktion und mechanischer Stabilität untersucht. Die Ergebnisse aller Untersuchungen inkl. histologischer Analysen, Ultraschallkontrollen und mechanischer Zugprüfungen wurden im Folgenden mit der experimentellen Literatur und mit Daten von konventionellen Netzen aus einem Begleitversuch verglichen.

Hierbei stellte sich das implantierte BNC aus histo-morphologischer Sicht als weitgehend inertes Material mit wenig Umgebungsreaktion dar. Eine Woche postoperativ fanden sich bei 30 % der BNC-Sublay-Gruppe und bei 33,3 % der BNC-BWE-Gruppe Serome, die sich durchschnittlich nach 5,7 Tagen bzw. 4,3 Tagen zurückgebildet hatten. Im BWE zeigte sich in der Adhäsionsbeurteilung ein mäßiger Verwachsungsgrad (Grad II im Vandendael-Score). Es fanden sich eine Schrumpfungseigung von ca. 15 % (BNC-Sublay) bzw. 17 % (BWE) sowie ein Reißkraftverlust von ca. 25 % (BWE). Die Dehnbarkeit nahm in beiden Situationen überproportional zu (Sublay Faktor 15, BWE Faktor 3).

Die Möglichkeit BNC aus *Gluconacetobacter xylinus* als Hernienimplantat und BWE erfolgreich anzuwenden, konnte in dieser Pilotstudie im Rattenmodell erstmals nachgewiesen werden. Bei PTFE-ähnlicher Gewebeintegration weist das Material im Bauchwandersatz-Modell eine ca. 17 %-ige Schrumpfung und einen postoperativen Reißkraftverlust von ca. 25 % auf. Die histologischen Analysen und klinischen Parameter bestätigen die gute Biokompatibilität von BNC.

BNC erfüllt die Anforderungen an ein Hernienimplantat im weitestgehenden Maße, wobei Schrumpfrate und Reißkraftverlust in weiteren experimentellen und ggf. klinischen Untersuchungen weiter erforscht werden sollten.

## **1 Einleitung: allgemeine Grundlagen und aktueller Stand der Forschung**

### **1.1 Inzidenz der verschiedenen Hernienarten und Rezidivproblem**

Eine Hernie ist definiert als ein Eingeweidebruch mit Verlagerung von Eingeweiden und Organteilen bei Ausstülpung des parietalen Bauchfells durch eine angeborene oder erworbene Bauchwandlücke (Roche). Definitionsgemäß unterscheidet man verschiedene Formen von Hernien. Äußere Hernien sind Vorstülpungen durch die Bauchwand nach außen. Hierzu zählen unter anderem Leisten-, Schenkel-, Narben-, Nabel- und Bauchwandhernien. Innere Hernien hingegen sind Brüche innerhalb des Bauchraumes, die äußerlich nicht in Erscheinung treten. Die Inzidenz der Bauchwandhernie beträgt weltweit ca. 25 Millionen pro Jahr bei einer Lebenszeitprävalenz von 1,7 % (Otto 2006, Jenkins und O'Dwyer 2008). Mit einem jährlichen Neuauftreten von ca. 200.000 Fällen in Deutschland stellt die Leistenhernie die häufigste chirurgische Erkrankung überhaupt dar (Geissler und Anthuber 2011). Die Häufigkeit der Narbenhernien nach Laparatomie wird in der Literatur sehr unterschiedlich angegeben und beträgt je nach Quelle zwischen 10 und 20 % (Binnebosel et al. 2007, Eisner und Harder 1997, Hartel W 1999, Hohlbach und Meffert 1997, Klinge et al. 1997, Langer C. 2007, Schumpelick et al. 1997a). Aufgrund der meist auf drei Jahre beschränkten Nachbeobachtungszeit sind valide Aussagen allerdings nur sehr eingeschränkt möglich. Die wenigen Studien mit längerer Beobachtungszeit zeigen hingegen, dass sich die Narbenhernienrate von etwa 10 % nach 1-2 Jahren auf etwa 20 % nach 10 Jahren verdoppelt (Höer J 2011). Weitere vergleichsweise häufige Hernien stellen die Femoralhernie und die Nabelhernie (5 - 10 %) dar. Alle anderen Hernienarten (wie z. B. innere Hernien, lumbo- oder sternocostale Hernien, die Hernia obturatoria und ischiadica oder Sonderformen) sind demgegenüber selten. Den häufigsten Hernienarten gemeinsam ist das klinische Problem des Rezidivs nach einer operativen Versorgung. Dank moderner Qualitätsstandards betragen die Rezidivraten nach der operativen Versorgung einer Leistenhernie inzwischen deutlich unter 5 %. In der älteren Literatur wird die Rezidivrate nach Narbenhernienversorgung teils mit über 40 % angegeben (George und Ellis 1986, Hughes 1987, Korenkov et al. 2001). Doch selbst in der Ära der „modernen“ Narbenhernienchirurgie wird sie immerhin noch mit einer Größenordnung von 10 - 20 % angegeben (Schumpelick et al. 2006). Die Häufigkeit und die damit einhergehende volkswirtschaftliche Bedeutung der Hernien sowie das klinische Problem „Hernienrezidiv“ führten, insbesondere in Bezug auf neue Materialien und

Operationstechniken, zu einer intensiven Beachtung dieser Erkrankung in der chirurgischen Forschung.

## **1.2. Techniken in der operativen Hernienversorgung**

### **1.2.1 Leistenhernie**

Seit der Erwähnung des Bruchbandes durch Celsus 25 v. Chr. hält die Beschreibung neuer Reparaturtechniken bis zum heutigen Tage ununterbrochen an (Scheidbach 2003). In ihrer Entwicklung beruhen die grundlegenden operativen Reparatursprinzipien der Leistenhernie historisch auf einer Verstärkung der Vorder- oder Hinterwand des Leistenkanals. Verfahren zur Verstärkung der Vorderwand und Einengung des äußeren Leistenringes reichen teils bis ins 16. Jahrhundert zurück und wurden allesamt verlassen (Caspar Stromayr 1559, Matthäus Gottfried Purmann 1692, Girard 1868, Vinzent von Cerny 1877). Die Verfahren der Hinterwandverstärkung und Einengung des inneren Leistenringes finden hingegen in teils modifizierter Form bis heute Anwendung (z. B. E. Bassini 1889, G. Lotheissen 1898). Dass aktuell über 30 unterschiedliche Methoden gebräuchlich sind, offenbart deutlich die bis heute fehlende Existenz eines Goldstandards in der Leistenhernienreparatur (Sachs et al. 1997, Scheidbach et al. 2004, Scheidbach 2003).

Grundsätzlich lassen sich die gebräuchlichen Verfahren in autologe und alloplastische Reparaturverfahren (sog. Naht- und Netzverfahren) einteilen.

Letztere können in konventioneller oder minimal-invasiver Technik durchgeführt werden. Die hierzulande am häufigsten durchgeführten autologen, auf dem Prinzip einer Faszien Doppelung beruhenden, Verfahren sind die Methode nach Bassini, Lotheissen-McVay und Shouldice. Die häufigsten auf einer alloplastischen Verstärkung beruhenden Verfahren sind die Methode nach Lichtenstein und Rutkow; außerdem die von M. Arregui und R. F. Fitzgibbons 1992 gleichzeitig erstbeschriebene transabdominale Patchplastik (TAPP) sowie die laparoskopische total extraperitoneale Patchplastik (TEPP). Die TEPP wurde von G. Dulucq in Frankreich, von G. S. Ferzli in den USA sowie von P. Hourlay unabhängig voneinander anfangs der 1990er Jahre vorgestellt.

Während für die konventionelle Shouldice-Technik in der Literatur Rezidivraten von 31 - 54 % angegeben werden (Misra et al. 2006), ließen sich diese durch die spannungsfreie Netzoperation

nach Lichtenstein auf deutlich unter 10 % (Welty et al. 2001) und durch die laparoskopische Versorgung sogar auf unter 5 % (Costello et al. 2007) reduzieren. Dem hat die European Hernia Society in ihrer aktuellen Leitlinie mit einer Grad-A-Empfehlung zur spannungsfreien Versorgung des Leistenbruchs mit einem Netz Rechnung getragen (Simons et al. 2009). Neueste Untersuchungen haben die Durchführbarkeit der sog. MAS (Minimal Access Surgery) als transumbilikale Single-Port-Technik zur minimalinvasiven Leistenhernioplastik beschrieben (Agrawal et al. 2010). Einem eventuell besseren kosmetischen Ergebnis stehen hierbei jedoch höhere Kosten aufgrund des notwendigen Spezialinstrumentariums, eine potentiell höhere Gefahr für Wundheilungsstörungen und Trokarhernien sowie ein höherer technischer Schwierigkeitsgrad und eine längere Operationsdauer entgegen.

### 1.2.2 Narbenhernie

Jegliche Lücke der abdominalen Wand mit oder ohne Vorwölbung im Gebiet einer postoperativen Narbe, nachweisbar durch klinische Untersuchung oder Bildgebung, wird als Narbenhernie bezeichnet (Korenkov et al. 2001). Die Genese von Narbenhernien ist multifaktoriell und die Risikofaktoren dafür vielfältig (z. B. chronische Lungenerkrankungen, Adipositas, Steroidtherapie, Diabetes mellitus Typ II, Nikotinabusus, (Yahchouchy-Chouillard et al. 2003)). Der Narbenhernie kann als ein Hauptfaktor eine systemische Kollagenstoffwechselstörung zugrunde liegen, wodurch die Heilungs- und Reparationsmechanismen der Bauchdecke bei betroffenen Patienten insuffizient sind. Daher erscheint nur der Einsatz von nichtresorbierbaren alloplastischen Netzmaterialien eine langfristige Sanierung zu ermöglichen (Conze et al. 2010). Die Implantation dieser Kunststoffnetze kann konventionell offen oder laparoskopisch erfolgen. Bis heute konnte das Optimum der chirurgischen Versorgung einer Narbenhernie nicht endgültig definiert werden. Da eine Narbenhernie Ausdruck einer nur unzureichenden Faszienheilung ist, führt die Rekonstruktion eines solchen Defekts mit der gleichen Methodik wie der Primärnaht zwangsläufig zu einem mangelhaften Ergebnis (Winkler et al. 2008).

Ab einer Bruchlücke größer als 2-3 cm resultieren bei der Reparatur von Narbenhernien ohne zusätzliche Netzaugmentation hohe Rezidivraten. Zur Senkung der Rezidivrate wird daher grundsätzlich die Implantation von synthetischen Netz-Materialien empfohlen (Ventral Hernia Working Group 2010). Je nach Lage des Netzes in den verschiedenen Schichten der Bauchwand unterscheidet man folgende Verfahren: außerhalb der Rektusscheide auf die Faszien- und Peritonealschicht der



Bauchmuskulatur (Onlay-Verfahren), hinter die Bauchmuskulatur (retromuskulär, Sublay-Verfahren) oder an die Ränder der Bruchlücke als Bauchwandersatz (Inlay-Verfahren).

Nach heutiger Datenlage ist keines dieser Verfahren eindeutig überlegen (Kingsnorth 2006). Aufgrund der besseren Bauchdeckenmechanik, der niedrigeren Rezidivrate und der geringeren Serombildung ist das Sublay-Verfahren in den Augen der Ventral Hernia Working Group und anderer Experteneinschätzungen am ehesten als Standardtechnik zu empfehlen (Korenkov et al. 2001, Winkler et al. 2008, den Hartog et al. 2008).

So stellt die retromuskuläre Netzaugmentation das Standardverfahren bei der offenen Narbenhernienreparation mit alloplastischem Material dar (Conze et al. 2010). Unter Einbeziehung der verschiedenen Modifikationen der Bauchwandkomponentenseparation zum einen (Ramirez et al. 1990, Mischinger et al. 2010) und der retromuskulären Netzüberbrückung zum anderen, kann dieses Standardverfahren dahingehend erweitert werden, dass sich auch bei großen Fasziendefekten standardisierte Versorgungen gewährleisten lassen (Conze et al. 2010). Diese Technik zur autologen Augmentation der Bauchwand, insbesondere in Kombination mit einer Verstärkung durch ein epifaszial positioniertes Netz, wird zunehmend zur RepARATION komplizierter abdomineller Narbenhernien eingesetzt (Pantelis et al. 2012, Köhler et al. 2014).

Die laparoskopische Therapie von Narbenhernien durch die IPOM-Technik (intraperitoneal onlay mesh) verzichtet auf die anatomiegerechte Rekonstruktion der Bauchdecke. Das Netz überbrückt dabei die Bruchlücke ohne Verschluss des Fasziendefekts (Hoer et al. 2008). Seit ihrer Erstbeschreibung (LeBlanc und Booth 1993) findet sie zunehmende Verbreitung. In jüngsten Untersuchungen konnten hierfür günstigere Ergebnisse hinsichtlich der Wundkomplikationen bei gleichwertigen Ergebnissen hinsichtlich der Rezidivrate nachgewiesen werden (Berger 2010). Eine abschließende Beurteilung des Stellenwerts dieser Technik ist allerdings aufgrund unzureichender Langzeitdaten und der uneindeutigen wissenschaftlichen Datenlage noch nicht möglich (Hoer et al. 2008). Hinsichtlich der Operationszeiten liegen unterschiedliche Ergebnisse vor, meist aber verbunden mit einem Vorteil für die IPOM-Technik (Kapischke et al. 2008, Pierce et al. 2007, Sajid et al. 2009). Nachteilig sind postoperative Schmerzsyndrome, die trotz des minimal-invasiven Ansatzes dieser Technik, mit einem Anteil von 7 % der Patienten nicht selten sind (Eriksen et al. 2009). Die bisherigen Metaanalysen offenbarten als entscheidenden Vorteil der laparoskopischen Methode eine geringere Wundinfektionsrate (Forbes et al. 2009, Sajid et al. 2009).

Als neueste Entwicklung haben sowohl die sog. NOTES (Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery) als auch die sog. MAS (Minimal Access Surgery) Einzug in die Forschung zur minimalinvasiven Narbenhernienversorgung gehalten.

NOTES ist aufgrund der kleiner werdenden bzw. an der Körperoberfläche nicht mehr sichtbaren Schnitte als Weiterentwicklung der Laparoskopie zu verstehen (Fuchs und Breithaupt 2008). Der Zugang zum Abdomen erfolgt hierbei über natürliche Körperöffnungen wie Mund, Urethra, Vagina oder Rektum (Benhidjeb et al. 2007, Whang und Thaler 2010). Es stellt bislang allerdings - bezogen auf Hernien - einen überwiegend experimentellen Ansatz dar, da sich aufgrund des transrektalen, transvaginalen oder transgastralen Zugangs bei dieser Technik zwangsläufig Sterilitätsprobleme ergeben. In naher Zukunft ist daher keinesfalls mit einem routinemäßigen klinischen Einsatz im Rahmen einer netzgestützten Narbenhernioplastik zu rechnen (Hagen et al. 2009, Kantsevov et al. 2009, Miedema et al. 2009). Die verschiedenen Methoden der Minimal Access Surgery (LESS/Laparoendoscopic single-site surgery, SILS/Single Incision Laparoscopic Surgery) wurden im Gegensatz dazu bereits auf vergleichsweise breiter klinischer Basis untersucht (Bower und Love 2011, Chung et al. 2011, Tai et al. 2011). Für die MAS-Methoden wurde hierfür zumindest Gleichwertigkeit gegenüber der laparoskopischen Standardmethode bei einigen zusätzlichen Vorteilen gezeigt. Da valide Langzeitergebnisse bislang nicht vorliegen, bleibt abzuwarten, inwieweit MAS zu einer anerkannten Alternative der Narbenhernienversorgung werden kann.

### 1.2.3 Bridging und Bauchwandersatz

Muss im Rahmen einer Hernioplastik ein großer Fasziendefekt mit Fremdmaterial „überbrückt“ werden, ohne dass eine Adaptation des vorderen Faszienblatts möglich ist, so spricht man von „Bridging“ (Conze et al. 2010). Zu solchen Bauchwanddefekten, bei denen ein derartiges Vorgehen erforderlich wird, können abdominelle Infektionen mit ausgedehnter Peritonitis, Traumen, Fehlbildungen und Rezidivsituationen von Narbenbrüchen führen. Zwar ist der überbrückte Anteil von den darüberliegenden Weichteilen gedeckt, die mechanische Funktion des fehlenden muskulo-faszialen Bauchwandanteils aber wird beinahe ausschließlich durch das eingebrachte Fremdmaterial übernommen. In dieser Situation ist die spannungsfreie Implantation von besonderer Bedeutung, um durch eine möglichst homogene Kraftverteilung über das Netz Rezidive zu vermeiden (Conze et al. 2010). Mechanisch gesehen ähnelt diese Situation grundsätzlich einem ventralen kongenitalen Bauchdeckendefekt beim Neugeborenen.

Hier sind allerdings verschiedene Ausprägungen zu unterscheiden: die Nabelhernie als mildeste Form, die Omphalozele, die Laparoschisis sowie der Blasenextrophie-Kloakenextrophie-Komplex. Bei der Versorgung solcher Bauchwanddefekte werden meist synthetische oder biologische Materialien zur Defektüberbrückung eingesetzt. In den letzten Jahrzehnten ist die Letalität dieser Fehlbildungen, bei einer inzwischen auf über 90 % gestiegenen Überlebenswahrscheinlichkeit, deutlich zurückgegangen (Krause et al. 2009). Auch dank der immer besseren und früheren Diagnostik, können heutzutage fast alle Kinder einer operativen Therapie zugeführt werden und auch der Anteil der primären Verschlüsse konnte deutlich gesteigert werden (Meyer et al. 2010).

Beide Situationen haben einen mehr oder weniger ausgeprägten Bauchwanddefekt des muskulo-faszio-peritonealen Kompartiments gemeinsam. Dieser Defekt stellt prinzipiell ähnliche Anforderungen an das Ersatzmaterial wie die Hernienchirurgie. Vorrangig umfassen diese eine möglichst vollständige Integration in die Tektonik der Bauchdecke, eine hohe und dauerhafte mechanische Stabilität und möglichst die Resistenz gegenüber ausgeprägten intestinalen Adhäsionen.

### **1.3 Bisher gebräuchliche Materialien**

Die Implantation von alloplastischen Materialien in Form von sogenannten Meshes oder Mesh-Plastiken dient der funktionellen Rekonstruktion der Bauchwand. Dabei muss zwischen der relativ seltenen Verwendung als Bauchwandersatz (< 5 %) bei ausgedehnten Defekten im Rahmen von angeborenen Defekten, der Rezidiv-Hernienchirurgie, Traumen oder radikaler Tumorchirurgie und dem häufigen Einsatz (> 95 %) zur Bauchwandverstärkung bei Hernien oder beim Vorliegen von Bindegewbserkrankungen unterschieden werden (Schumpelick et al. 1999, Schaudienst 2010).

#### **1.3.1 Hernienchirurgie**

Bei den ersten Versuchen Bruchlücken durch den Einsatz von Fremdmaterial zu verschließen wurden metallische Drähte verwendet. Nachdem Witzel 1889 und Barlett 1903 Silber und Busse 1901 sogar Gold verwendet hatten (Poole 1985), verwendete Ogilvie 1940 Stoffnetze. Die Entwicklung polymerer Kunststoffe für die Hernienreparation begann nach dem zweiten

Weltkrieg. Der erste Einsatz von synthetischem Material (Nylon®) zum Bruchlückenverschluss erfolgte 1948 durch Acquaviva und Bournet. Cumberland berichtete 1952 erstmals über den Einsatz von Kunststoffnetzen bei Hernienreparationen (Cumberland 1952). Im Jahre 1954 wurde in den USA das multifile Polyesternetz „Mersilene®“ entwickelt. Das 1959 von Usher erstmals als „Marlex® 50“ (Usher et al. 1958, Usher und Ochsner 1960) eingeführte Polyesternetz wurde 1962 aus Polypropylen neu konstruiert und ist bis heute in modifizierter Form auf dem Markt. 1985 berichtete Dayton erstmals über Versuche des Bruchlückenverschlusses mit resorbierbaren Materialien (Dayton et al. 1986), allerdings wurden diese Bemühungen aufgrund schlechter Langzeitergebnisse wieder verlassen (Scheidbach et al. 2004, Preiss 2008).

Die Vielfalt der heute gebräuchlichen Implantatmaterialien in der Hernienchirurgie ist nahezu unüberschaubar und die Anzahl der Produkte auf dem Markt wächst rasant (Orenstein et al. 2012). Dieser Umstand veranschaulicht, dass das ideale Netz bis heute nicht gefunden werden konnte. Problematisch ist auch, dass die eingesetzte Netzprothese je nach chirurgischem Verfahren und Art der Hernie eine Vielzahl unterschiedlicher Voraussetzungen erfüllen muss (Bringman et al. 2010, Erdmann 2013). Das theoretische Anforderungsprofil an ein ideales Implantat ist, wie in Tabelle 1 aufgeführt, klar definiert (Cumberland 1952, Scales 1953, Hamer-Hodges und Scott 1985, Schmidbauer et al. 2005, Shankaran et al. 2011, Weyhe 2009).

*Tabelle 1: Allgemeine Anforderungen an "ideale" Hernienimplantate*

Anforderungen an „ideale“ Hernienimplantate
- physikalisch und chemisch inert
- mechanische Stabilität
- keine Materialbeeinflussung / Materialalterung durch Körperflüssigkeiten
- bioinert
- keine / möglichst geringe Fremdkörperreaktion
- nicht kanzerogen
- chemisch neutral
- kein allergisches Potential
- sterilisierbar
- gut textiltechnisch verarbeitet
- gute Handhabbarkeit
- vom Gesundheitssystem finanzierbar

Die Klassifikation der vielen Netzmaterialien ist sehr uneinheitlich und teilweise verwirrend. Häufig verwendete Einteilungsmuster richten sich nach der Art des verwendeten Grundmaterials (Polypropylen, Polyester, ePTFE), der Porengröße, dem Flächengewicht (lightweight, heavyweight), der Fädenanzahl, der Netzstruktur (monofilamentär, multifilamentär) und der Resorbierbarkeit.

Am sinnvollsten erscheint jedoch heute zunächst die Unterteilung in synthetisch und biologisch. Die synthetischen Materialien lassen sich wiederum in modifizierte und nicht modifizierte unterteilen. Bei modifizierten unterscheidet man primäre, im Herstellungsprozess vorgenommene Materialkombinationen („Composite“) und sekundär vorgenommene Beschichtungen („beschichtete Netze“).

Heutzutage unterscheidet man hauptsächlich zwischen zwei Netzarten. Zum einen das klassische schwergewichtige Netz mit kleinen Poren und zum anderen das vergleichsweise neuartige leichtgewichtige Netz mit größeren Poren, reduziertem Gewicht und reduzierter Oberfläche. Als „lightweight mesh“ wurde ein Netz definiert, das bei einer Größe von 10 cm x 15 cm maximal 0,5 mm dick und maximal 1 g schwer ist (Hollinsky et al. 2008, Bringman et al. 2010). Schwergewichtige Netze wurden entwickelt, um ein Maximum an mechanischer Stabilität zu garantieren. Die Hernienlücke sollte hierbei mit einem straffen, nicht flexiblen Material verschlossen und ein Maximum an Narbengewebe induziert werden (Höfling 2006). Die leichtgewichtigen Netze werden im Gegensatz dazu an die physiologischen Eigenschaften der Bauchwand und der Leistenregion angepasst (Usher 1970, Usher 1971). Sie führen durch ihre geringere Kontaktfläche mit dem umliegenden Gewebe zu einer signifikanten Reduktion der Narbenbildung und so zu einem fortwährenden elastischen Hernienverschluss (Usher 1971, Usher 1979, Amid et al. 1994, Höfling 2006). Für die Integration in das Narbengewebe mit möglichst vollständiger Netzdurchbauung wird ein Mindestporendurchmesser von 100 µm gefordert (Morris-Stiff und Hughes 1998, Schumpelick et al. 1999, Schaudienst 2010).

Als Grundmaterialien für die Herstellung von Netzen werden derzeit im Wesentlichen die Polymere Polypropylen (PP), Polyethylenterephthalatester (Polyester), Expanded-Polytetrafluorethylen (ePTFE) und neuerdings Polyvinylidenfluorid (PVDF) genutzt (Schumpelick et al. 1999, Weyhe et al. 2008). Ursprünglich wurden diese Materialien für die Textilindustrie entwickelt und erst mit der Einführung von Nylon in der Medizin eingesetzt (Estour 2005, Erdmann 2013).

Polyester-Prothesen werden seit den 1960er Jahren eingesetzt und zeichnen sich durch ihre

starke Hydrophilie, ihre gute Verträglichkeit und ihre Stabilität aus (Estour 2005). Sie sind als multifilamentäre Konstruktion als leicht- oder schwergewichtige Variante auf dem Markt. Als das älteste bis heute erhältliche alloplastische Material wird es insbesondere in Frankreich bevorzugt als Hernienimplantat eingesetzt. Kritikpunkt bleibt die hydrolytische Spaltung des Materials durch eine komplementaktivierende und makrophagenvermittelte Entzündungsreaktion (Leber et al. 1998), die im Langzeitverlauf von über 10 Jahren zu einem klinisch relevanten Stabilitätsverlust führen könnte (Schumpelick et al. 1999, Langer C. 2007). Durch die ausgelöste chronische Entzündungsreaktion kommt es bei direktem Kontakt zwischen Netz und Intestinum verstärkt zu Adhäsions- und Fistelbildungen (Ritz 2006), was einen weiteren Nachteil darstellt und gegen eine unbeschichtete intraperitoneale Verwendung spricht.

Polypropylenetze werden trotz zahlreicher Nebenwirkungen vor allem wegen ihrer sehr guten Biokompatibilität und Zellinteraktion aktuell am häufigsten eingesetzt (Anurov et al. 2008, Ritz 2006, Chastan 2005). Sie sind heute in monofilamentärer (Marlex®, Prolene®) und multifilamentärer Form (Surgipro®) auf dem Markt. Durch ihre hydrophoben Eigenschaften (Wasseraufnahme <0,1 %, (Weyhe et al. 2008)) besitzen sie eine geringe Anfälligkeit für bakterielles Wachstum auf ihrer Oberfläche (Wulforth 1989). PP gilt als sehr festes und chemisch stabiles Polymer (Emans et al. 2009). Durch seine Steifigkeit weist es am Rand scharfe Kanten auf, wodurch es bei einem Hernienrezidiv zu Darmarrosionen kommen kann (Schumpelick et al. 1999, Preiss 2008). Ein großer Nachteil liegt auch bei diesem Material in der Tatsache, dass es intraabdominell vor seiner Inkorporation zu Adhäsionen und Fisteln mit dem Darm führen kann (Seelig et al. 1995). Insgesamt zeigen aktuelle leichtgewichtige und großporige PP-Netze eine geringe Begleitentzündung bei guter mechanischer Stabilität. Im Vergleich zu PTFE scheint es unempfindlicher gegenüber Infektionen zu sein und kann demnach laut einigen Autoren in der infizierten Situation bis zur Infektausheilung in situ belassen werden (Amid und Lichtenstein 1997, Schumpelick et al. 1999). Im Langzeitverlauf wurde, wie auch für Polyester, ein Degradationsprozess nachgewiesen (Costello et al. 2007).

Bei ePTFE, auch bekannt als Teflon, handelt es sich eher um eine „Folie“ als um ein Mesh. Diese Folie wird nach Implantation aufgrund der geringen Porengröße (1 – 6 µm), der hohen Hydrophobie und der negativen Oberflächenladung zellulär nur eingeschränkt durchbaut und daher nicht fest im Bindegewebe verankert, sondern vielmehr bindegewebig eingescheldet (Estour 2005, Langer C. 2007). Das Polymer besitzt eine etwas schlechtere Biokompatibilität

als PP und eine höhere Infektanfälligkeit (Simmermacher et al. 1994). Es zeigt zwar eine hohe Festigkeit, allerdings verbunden mit einer geringen Elastizität und langfristiger Instabilität (Schumpelick et al. 2002). Biophysikalisch unterliegt ePTFE einem Schrumpfungsprozess (Jacob et al. 2012). Die geringe Porengröße schützt Bakterien quasi als Rückzugsort vor der Vernichtung durch Makrophagen und fördert so deren Persistenz (Schaudienst 2010). Netzinfectionen bleiben dennoch mit  $< 4\%$  ein relativ seltenes Ereignis, bei dem allerdings, aufgrund der bindegewebigen Einscheidung, im Gegensatz zu anderen Materialien fast immer das infizierte Netz entfernt werden muss (Benhidjeb et al. 2008). Vorteile des Materials liegen in der minimalen Entzündungs- bzw. Fremdkörperreaktion und der beinahe vollständig fehlenden Adhäsionsbildung (Gal et al. 2004, Millikan et al. 2003), sodass ePTFE insbesondere bei der intraabdominellen Hernienversorgung empfohlen wurde (Conze et al. 2004, Berger et al. 2002). Vor allem wegen der im Vergleich zu anderen Materialien höheren Kosten, wurde das aus netzförmigem ePTFE bestehende Infinit Mesh (Gore®) vor wenigen Jahren vom Markt genommen.

PVDF weist im Gegensatz zu den oben beschriebenen Materialien verbesserte textile und biologische Eigenschaften auf (Urban et al. 1994). Neben seiner außergewöhnlichen chemischen und mechanischen Stabilität induziert es eine geringer ausgeprägte Immunantwort und zeigt selbst im Langzeitverlauf kaum Anzeichen der Materialermüdung. So ist es weitgehend resistent gegen hydrolytischen Abbau und auch die Steifigkeit verliert sich nicht über die Zeit. Erstmals wurde ein Netz aus PVDF 2002 für den Einsatz in der Hernienchirurgie untersucht. In einer tierexperimentellen Studie verglichen Klinge et al. die neuartige Netzkonstruktion mit einem üblichen Polypropylenetz. Hierbei zeigte sich bei den aus PVDF konstruierten Netzmaterialien, neben den bereits beschriebenen strukturellen und textilen Vorteilen, eine deutlich verminderte Fremdkörperreaktion (Klinge et al. 2002c, Preiss 2008).

Insgesamt wurden für jedes der oben genannten Materialien, insbesondere in experimentellen Ansätzen, jeweils Vor- und Nachteile beschrieben. Keiner dieser Vor- oder Nachteile war allerdings bisher dermaßen entscheidend, dass ein alleiniger Einsatz eines dieser Materialien die Folge war. Das ideale Netz, wie in Tabelle 1 aufgeführt, sollte die Bauchwandfunktion wiederherstellen, mit einem Maximum an Biokompatibilität in die Bauchwand integriert werden, keine schweren Komplikationen wie Adhäsionen oder Fisteln hervorrufen, zu keinen ernsthaften Langzeitkomplikationen wie Rezidiven, Infektionen und chronischen Schmerzen führen und letztendlich eine einfache Handhabung für die Hernienreparation gewährleisten

(Höfling 2006). Um diesen Maximalanforderungen näher zu kommen, wurden zwei oder mehrere alloplastische Materialien zu sog. Composite-Netzen kombiniert. Durch diese Kombinationen wird eine Optimierung der positiven bei gleichzeitiger Minimierung der negativen Eigenschaften angestrebt. Ein Beispiel für eine derartige Kombination ist PP und PTFE. Hierbei soll der PP-Anteil dem festen Einwachsen ins Gewebe dienen, wohingegen der PTFE-Anteil das Risiko von Adhäsionen und Fistelbildung minimieren soll (Gal et al. 2004, Langer C. 2007, Schaudienst 2010). Diese Kombinationen sind insbesondere für einen intraabdominellen Einsatz mit direktem Kontakt zum Intestinum geeignet, wie etwa bei der laparoskopischen IPOM-Versorgung.

Eine weitere Kombinationsmöglichkeit für Composite-Netze bietet die Verbindung von resorbierbaren und nicht resorbierbaren Anteilen. Hierbei wird der resorbierbare Netzanteil innerhalb von 50-70 Tagen hydrolytisch abgebaut und somit verringert sich die Menge des eingebrachten Fremdmaterials nach 6-8 Wochen um etwa die Hälfte (Ritz 2006, Schaudienst 2010).

Herkömmliche Netze führen bei intraperitonealer Implantation zu Adhäsionen und im Falle einer Relaparotomie zu einer signifikant höheren Komplikationsrate (Halm et al. 2007). Für die Etablierung der IPOM-Technik war die Entwicklung adhäsionsvermeidender Netzbeschichtungen dementsprechend eine Grundvoraussetzung. Über die Jahre wurde eine Vielzahl verschiedener Beschichtungen entwickelt und im Rahmen von in-vitro und in-vivo Studien überprüft, ohne dass sich eine der Materialkombinationen als bahnbrechend erweisen konnte (Geckeler et al. 2003). Mehr als 10 Netzprodukte sind inzwischen für die intraperitoneale Platzierung erhältlich. Die Implantatbeschichtungen lassen sich grundsätzlich in resorbierbare und nichtresorbierbare unterscheiden (Deeken et al. 2011a, Gruber-Blum et al. 2011). Abhängig von ihrer chemischen Zusammensetzung und der Art des Resorptionsprozesses lassen sich erhebliche Unterschiede in der peritonealen Entzündungsantwort für die verschiedenen Beschichtungen erwarten. Bei der erheblichen Anzahl an Studien zu diesem Thema lässt sich keine Tendenz für eine der Material-Beschichtungskombinationen erkennen. Problematisch erweist sich die von Gray et al. beschriebene Vervielfachungsrate ungeplanter Darmresektionen und Enterotomien nach IPOM und die von Schreinemacher et al. insbesondere in der ersten und vierten postoperativen Woche beschriebene vermehrte reaktive Adhäsionsbildung (Gray et al. 2008, Schreinemacher et al. 2009). Trotz der insgesamt vermuteten Vorteile des minimal-invasiven Zugangswegs, lässt sich der Stellenwert des Verfahrens aufgrund fehlender Langzeitdaten und dem Mangel an



verlässlichen klinischen Studien nicht abschließend beurteilen.

Dem Ideal eines synthetischen Netzes kann, wie erwähnt, keines der bisher gebräuchlichen Materialien gerecht werden. So sind die heute bevorzugt verwendeten Materialien (PP, PTFE und Polyester) sowohl aufgrund experimenteller als auch klinischer Befunde als gleichwertig anzusehen. Nach heutigem Wissensstand entsprechen diesem Ideal am ehesten folgende Eigenschaften: materialreduziert / leichtgewichtig ( $<50 \text{ g/m}^2$ ), monofilamentär / großporig ((1 - 1,5 mm), (Bittner et al. 2011, Bittner et al. 2014)).

Seit mehr als 60 Jahren werden synthetische Netze eingesetzt und erforscht. Ihre Entwicklung erfolgte hierbei in drei unterschiedlichen Entwicklungsstufen. Die erste Generation stellten die schwergewichtigen Netze dar. Die aktuell am meisten verwendeten leichtgewichtigen Netze sind die zweite Generation, an deren Optimierung anhaltend gearbeitet wird. Laut Experteneinschätzungen werden optimierte leichtgewichtige Netzkonstruktionen mit einer chemisch und biologisch aktiven Oberfläche die dritte Netzgeneration darstellen (Höfling 2006). In dieser neuen Epoche der Hernien- und Netzforschung werden interdisziplinäre Forschungsgruppen aus Naturwissenschaftlern, Biologen, Chemikern, Textilingenieuren, Pathologen und Chirurgen danach streben, die komplexe Pathophysiologie der Hernien zu entschlüsseln und neueste Technologien zur Konstruktion bioaktiver Netze der Zukunft zu entwickeln und zu verwenden (Höfling 2006).

Da jeder eingebrachte Fremdkörper, wie auch immer optimiert, dennoch immer eine biologische Reaktion des Organismus auslöst, bleiben stets gewisse Restrisiken und die Gefahr potentieller Netzkomplicationen. Auf dieser Tatsache basierend entwickelte sich global eine intensive Forschungsaktivität mit besonderer Beachtung biologischer Materialien. Aufgrund der ihnen attestierten günstigen Materialeigenschaften werden „Biologicals“ heutzutage intensiv erforscht. Aber auch dieses als neu erscheinendes Feld kann auf eine lange Geschichte zurückblicken. Bereits 1831 setzte Belmas erfolgreich die Schwimmblasen von Fischen zum Bauchwandverschluss bei Leistenhernien ein. 1886 bildete Macewen einen autologen Gewebepfropfen aus Bruchsackmaterial zum Verschluss des inneren Leistenringes. Rehn verwendete 1887 zur Verstärkung des Leistenkanals die Fascia lata und Trendelenburg einen von der Symphyse gewonnenen Periostlappen (Schumpelick et al. 1999).

Die heute am häufigsten verwendeten „Biologicals“ sind aus humaner, porciner und boviner Dermis, bovinem Perikard und porciner Dünndarmsubmucosa hergestellt. Sie werden

insbesondere in der Leisten- und Narbenhernienchirurgie intensiv erforscht (Bellows et al. 2011, El-Hayek und Chand 2010, Shankaran et al. 2011, Smart und Bloor 2012).

Alle heute verwendeten biologischen Materialien sind vergleichsweise neue technische Entwicklungen. Sie gelten als nicht immunogen, sind azellulär und bilden ein Gerüst extrazellulärer Matrix. Nach der Implantation lagert sich Empfänger-kollagen an und die extrazelluläre Matrix wird nach und nach abgebaut. Dieses „Remodeling“ führt zu einem mechanisch ausreichend stabilen Gewebe. Um den Kollagenabbau einzudämmen und damit die mechanische Stabilität möglichst noch zu erhöhen, werden einige handelsübliche biologische Netze einem eigenen chemischen Prozess unterzogen. Dieser als „Crosslinking“ bezeichnete Prozess führt zur Disulfidbrückenbildung („crosslinks“) zwischen den Kollagenfibrillen. Neueste Forschungsergebnisse relativieren den in der bisherigen Forschung (James et al. 1991, Sandor et al. 2008) beschriebenen Vorteil des Crosslinkings und stellen andere Faktoren (Gewebetyp, Art der Prozessierung) mehr in den Vordergrund (Butler et al. 2010, Deeken et al. 2011b). Auch wurde bei cross-linked Netzen eine höhere Zahl unerwünschter Effekte dokumentiert (Harth und Rosen 2009).

Durch Crosslinking lassen sich Meshes mit unterschiedlichen „Designs“ herstellen. So können Netze geschaffen werden, die jahrelang persistieren, wohingegen non crosslinked meshes nach Monaten abgebaut sein können. Der entscheidende Unterschied besteht darin, dass mit zunehmendem Crosslinking die Widerstandsfähigkeit gegenüber enzymatischem Abbau erhöht wird und zugleich die Rate der zellulären Durchbauung zugunsten einer fibroblastären Einkapsulierung abnimmt. Die dadurch bedingte geringere Inkorporation des Materials lässt sich durch punktförmige Perforationen auf der Netzoberfläche verbessern (Jenkins et al. 2011). Obwohl für Non-Crosslinked-Netze gegenwärtig in der Literatur Vorteile postuliert werden, ist auch für die Biologicals das „optimale“ Implantat noch nicht gefunden.

### 1.3.2 Bauchwandersatz

In der Hernienchirurgie ist nur selten und nur bei großen Weichteildefekten nach Herniotomie ein eigentlicher Bauchwandersatz (BWE) nötig. Die hierzu verwendeten Materialien können sowohl synthetisch als auch biologisch sein und sind keineswegs standardisiert (Rauchfuss et al. 2012). Vor allem in der Kinderchirurgie und der plastisch-rekonstruktiven Chirurgie sind Materialien zum Bauch- und Rumpfwandersatz häufig gefordert und eine Vielzahl synthetischer und biologischer Materialien konnten hierfür erfolgreich evaluiert werden.

Zunehmend Beachtung findet in diesen beiden Bereichen auch das Tissue Engineering (Drewa et al. 2005). Das Potential, mitwachsen zu können, spielt insbesondere in der Kinderchirurgie eine entscheidende Rolle und so sind hier biologische Materialien, wie z. B. lyophilisierte Dura oder heterologes Perikard, schon länger und erfolgreich im Einsatz. Die Materialforschung in diesem Gebiet lässt sich kaum mit der in der Hernienchirurgie vergleichen. Beim kindlichen Bauchwandersatz ist vor allem die Schwere der Grunderkrankung limitierend. Außerdem werden beispielsweise bei der Gastroschisis ganz andere mechanische Anforderungen an das Material gestellt. Nach einer primären plastischen Erweiterung der Bauchhöhle ist meist erst in zweiter Sitzung ein definitiver Bauchwandersatz möglich bzw. erwünscht (Krause et al. 2009). Für den definitiven Bauchwandersatz stehen im Wesentlichen PTFE und PP als synthetische sowie Dura, bovines Perikard und biokompatibles Kollagen-Mesh als biologische Materialien zur Verfügung (Krause et al. 2009, Mann et al. 2008, Meyer et al. 2010). Viele klinische und experimentelle Gesichtspunkte sprechen für den Einsatz von Biologicals, insbesondere da synthetische Materialien durch ihr mangelndes Mitwachsen vermehrt zu Rezidiven und Bauchwanddeformitäten führen (Gonzalez et al. 2011, Ozog et al. 2009).

In der plastischen Chirurgie werden entsprechend der breiten Optionen für die Rekonstruktion häufig Lappenplastiken eingesetzt, die oft primär mit alloplastischen Augmentationsmaterialien (z. B. PTFE oder PP) kombiniert werden. Zunehmend werden hier auch biologische Materialien eingesetzt. Mit vielen Materialinnovationen bei intensiver Fokussierung auf das Tissue Engineering haben die plastische und die Verbrennungschirurgie ihre Nachbargebiete deutlich bereichert (Glasberg und Light 2012, Mueller et al. 2011, Stark et al. 1998, Schantz JT 2008, Bauer L 2007, Granitzka 2007).

Wie in allen zuvor behandelten Bereichen, ist auch beim Bauchwandersatz das „ideale“ Material bis heute nicht gefunden. Den Vorteilen der synthetischen Materialien mit ihrer guten mechanischen Stabilität und der Modifizierbarkeit in Abhängigkeit von den Anforderungen steht die mäßige Biokompatibilität entgegen, die je nach Konstruktionsweise variiert. Die biologischen Implantate zeichnen sich durch eine bessere Biokompatibilität aus, weisen allerdings Mängel bezüglich der mechanischen Stabilität auf. Da die Grundanforderungen an das verwendete Material auch beim Bauchwandersatz grundsätzlich sehr ähnlich sind, ist in Zukunft eine vermehrte interdisziplinäre Vernetzung auf der Suche nach dem „idealen Implantat“ wünschenswert.

## 1.4 Biokompatibilität

Der Begriff Biokompatibilität beschreibt die Verträglichkeit zwischen Implantat und biologischem System (Scheidbach 2003). Wörtlich bedeutet Biokompatibilität „mit den Lebensvorgängen in Einklang sein“ (Weyhe 2009). Sie wird nicht nur durch die rein chemische Materialzusammensetzung bestimmt, sondern vielmehr durch die chemischen, strukturellen und physikalischen Oberflächeneigenschaften. Neben den Wechselwirkungen mit dem umliegenden Gewebe spielt auch die Dosis bzw. Materiallast sowie das gesamte Design des Implantates eine Rolle.

Allen heute üblichen alloplastischen Materialien gemeinsam ist eine Fremdkörperreaktion des Körpers gegen das Implantat. Diese entspricht im Wesentlichen einer Entzündungsreaktion auf einen schädigenden Reiz (Preiss 2008).

Die meisten Biomaterialien, die unter anderem auch Polymere enthalten, sind physikalisch und chemisch inert und nicht toxisch (Höfling 2006). Da sie jedoch nicht auch biologisch inert sind, induzieren sie im lebenden Organismus eine Vielzahl von Gewebereaktionen wie Entzündungen, Fibrosen, Kalzifikationen, Thrombosen oder Infektionen.

Die Entzündungsreaktion auf Fremdkörper unterschiedlicher Art ist generell erstaunlich konstant und ist maßgeblich charakterisiert durch eine schnelle Akkumulation phagozytierender Zellen wie Monozyten und Makrophagen (Höfling 2006, Klosterhalfen et al. 1998, Junge et al. 2002, Junge et al. 2012). Zu der bis heute ungeklärten Frage, warum inerte Biomaterialien eine Entzündungsreaktion auslösen, wird von den vielen Theorien zur Induktion dieser Reaktion bevorzugt die der Proteinabsorption akzeptiert. Direkt nach der Implantation erfolgt innerhalb von Sekunden eine Plasmaproteinabsorption an der Fremdkörperoberfläche, wodurch es zur Bildung einer Membran mit dem Ziel einer Isolierung des Fremdkörpers vom Empfängerewebe kommt. Diese Membran besteht aus Proteinen des Empfängergewebes, wie vor allem Albumin, Immunglobulin G, Fibrinogen und Fibrinogenderivaten (Andrade und Hlady 1987). Die Menge und die Zusammensetzung der angelagerten Proteine, und somit die Art und das Ausmaß der Entzündungsreaktion, ist hauptsächlich abhängig von der elektrischen Affinität, den biochemischen Eigenschaften, der Porengröße, der Oberflächenbeschaffenheit und dem Verhältnis der Masse zur Oberfläche des Implantats. Daher kann sie zwischen den verschiedenen Polymeren variieren, wodurch eine ganz bestimmte Fremdkörperreaktion auf ein ganz bestimmtes Biomaterial resultiert (Vroman 1987b, Vroman 1987a, Roohk et al. 1976, Höfling 2006). Die wesentliche gemeinsame Endstrecke dieser Implantateigenschaften ist die Art und das Ausmaß der resultierenden Proteininteraktionen (Estour 2005, Lakard et al. 2005,

Niepel et al. 2009).

Im Anschluss an den Vorgang der Proteinabsorption werden Phagozyten auf der Oberfläche des Biomaterials absorbiert und durch die Proteinschicht immunologisch aktiviert (Höfling 2006, Junge et al. 2002, Junge et al. 2012, Klosterhalfen et al. 1998). Durch die Freisetzung hochpotenter Entzündungsmediatoren aktivieren sie inflammatorische Zellen wie T-Zellen, Granulozyten, Plasmazellen und Fibrozyten und lösen so Entzündungs- und Wundheilungsprozesse aus (Bhardwaj et al. 1997, Höfling 2006). Durch die Aktivierung von Fibroblasten kommt es zur Ausbildung von fibrotischem Bindegewebe und durch Aktivierung von Endothelzellen zur Einsprossung weiterer Kapillaren (Höfling 2006). So kommt es innerhalb weniger Tage zur Ausbildung von Frühgranulomen mit einer charakteristischen äußeren Fibrose- und Zellschicht und den typischen Fremdkörperriesenzellen als dem „Endstadium einer Entzündungsreaktion“ (Höfling 2006, Junge et al. 2012).

Kann während der akuten Inflammationsphase das auslösende Agens nicht eliminiert werden, wie es bei den nicht resorbierbaren Biomaterialien der Fall ist, erfolgt der Übergang in eine chronische Entzündung. Durch den vermehrten Umbau des Granulationsgewebes in faserreiches Bindegewebe kommt es um das Implantat herum zur Ausbildung typischer Fremdkörpergranulome. Diese Spätgranulome repräsentieren eine chronische Wunde mit einem erhöhten Zellumsatz, der noch Jahre nach der Fremdkörperimplantation beobachtet werden kann. Da jedoch Monozyten und gewebsständige Makrophagen an der Grenzfläche zum Biomaterial einen apoptotischen Zelltod erleiden und durch Zellen der Peripherie ersetzt werden, sind sie nicht als statische chronische Entzündungsreaktion aufzufassen (Anderson und Miller 1984, Bernatchez et al. 1996, Höfling 2006).

Bei einem schnellen Rückgang der anfänglich hohen Makrophagen- und Granulozytenzahl mit gleichzeitiger Entwicklung von Neokapillaren und Fibroblasten, die eine Reorganisation des Gewebes ermöglichen, spricht man von einer günstigen Entzündungsantwort. Persistieren die Makrophagen allerdings nach dem Anstieg auf einem höheren Niveau und kommt es zur Entstehung von Fremdkörperriesenzellen, so ist dies als ungünstige Entzündungsantwort anzusehen. Im Anschluss an eine derartige Situation kommt es zu einer überschießenden Kollagenproduktion und Fibrosierung durch von der anhaltenden Entzündungsreaktion stimulierte Fibroblasten (Estour 2005).

In der Beurteilung, Detektion und Quantifizierung von entzündlichen Reaktionen im Organismus hat sich in den letzten Jahren als Ergänzung zu den klassischen Entzündungs-, Fibrose- und Neovaskularisationsparametern eine Vielzahl neuer Marker bewährt. Neben dem

Apoptoseindex, dem partial volume of inflammatory cells und dem Nachweis von Mastzellen und deren Produkten (Histamin, Serotonin, Heparin, Prostaglandine, Cytokine etc.), finden insbesondere Marker der extrazellulären Matrix wie Kollagen und Laminin, Ki-67, VEGF, TGF- $\beta$ , c-myc,  $\beta$ -Katenin, Notch3, COX-2 und CD 68 eine immer breitere Anwendung (Asarias et al. 2011, Klink et al. 2011, Orenstein et al. 2010, Schug-Pass et al. 2008, Takacs et al. 2011, Wintermantel et al. 1999).

Die Interaktion zwischen Biomaterial und Gewebe erfolgt hierarchisch auf verschiedenen Ebenen, die durch spezifische Signalketten eng miteinander verzahnt sind. Heutige Biomaterialien erfüllen die Bedingungen der Biokompatibilität nur insofern, dass beispielsweise die Einkapselung in fibröses Bindegewebe oder schwache Entzündungsaktivität noch als „angemessene“ Reaktion des Organismus und damit im weitesten Sinne als bioinert gelten. Da jedes Implantat kein lebendes, regenerationsfähiges System darstellt, verhält es sich jedoch letztlich immer mehr oder weniger wie ein Fremdkörper (Scheidbach et al. 2004, Scheidbach 2003). Die großflächige Implantation von Netzkonstruktionen beinhaltet die Inkorporation einer großen Menge Fremdmaterials mit einer erheblichen Kontaktfläche. Unausweichliche Folge ist die Induktion einer entzündlichen Fremdkörperreaktion (Klinge et al. 1999, Klosterhalfen et al. 2000). Der heutige Begriff der Biokompatibilität entwickelt sich daher von der Vorstellung einer biochemischen Inertheit der Materialien hin zu einer eher anwendungsorientierten Definition im Organismus (Weyhe 2009, Williams 2003). Die Definition nach Williams, dass eine speziell zuge dachte Funktion mit einem Höchstmaß an biologischer Inkorporation ohne unerwünschte lokale oder systemische Effekte erfüllt wird (Williams 2003), zwingt im Hinblick auf die Biokompatibilität verschiedener Materialien zu einer Berücksichtigung des Implantationsortes, der Funktion und der erwünschten oder unerwünschten klinischen Folgezustände.

Hieraus können sich für dasselbe Material bzw. dieselbe Grundsubstanz komplett unterschiedliche, teils gegensätzliche Funktionsanforderungen stellen. Betrachtet man beispielsweise mögliche Einsatzgebiete von PTFE, so stellt der Einsatz als Hernienmaterial gänzlich andere Anforderungen als der Einsatz als Gefäßimplantat. Sogar ein Einsatz als Hernienimplantat stellt, je nach gewünschter Funktion (Ausmaß der mechanischen Funktion der Faszie, die ersetzt werden soll) und geplanter Implantatlage (intraperitoneal oder extraperitoneal), unterschiedliche Anforderungen an das Material (Binnebosel et al. 2011).

Wie bereits oben erwähnt wird das Ausmaß der entzündlichen Komponente der Fremdkörperreaktion nach Implantation von Netzmaterialien erheblich durch die Art

(Polypropylen, Polyester, PTFE), die Menge (schwer-/leichtgewichtig), die Struktur und die Beschaffenheit der Oberfläche des eingebrachten Polymers bestimmt. Die Netzoberfläche wiederum ist stark abhängig von den Struktureigenschaften des Netzes wie Porengröße, Durchmesser und Anzahl der benutzten Polymerfasern. Schwergewichtige kleinporeige Netze (hohes Flächengewicht  $\text{g/m}^2$ ) induzieren vornehmlich eine initial akut inflammatorische Reaktion mit anschließender massiver Bindegewebsinduktion und Ausbildung von kollagenreichem Narbengewebe mit zahlreichen Quervernetzungen. Hierbei kommt es zur Einbettung des gesamten Netzes in eine Art Narbenplatte. Dieses Phänomen der „Überbrückung“ führt unter anderem zur Netzschrumpfung.

Leichtgewichtige großporige Netze hingegen lösen aufgrund ihrer geringeren Oberfläche geringere Fremdkörperreaktionen aus und zeigen eher das Bild einer blande-chronischen, monozytär dominierten, lymphozytenreichen Entzündungsform mit Ausbildung klassischer Granulome mit zahlreichen Riesenzellen. Die Kollagenfasern sind hierbei mehr kapselartig um das Netz mit seinen zahlreichen Granulomen herum orientiert (sog. Narbennetz). Zahlreiche Studien konnten die Überlegenheit großporiger und leichtgewichtiger Netzmaterialien in Bezug auf die Biokompatibilität bereits bekräftigen (Klosterhalfen et al. 2000, Klosterhalfen et al. 2002, Klosterhalfen et al. 2005, Schumpelick et al. 1999, Klinge et al. 2002a, Klinge et al. 2002b, Cobb et al. 2005, Preiss 2008).

Die Reaktion des Gewebes auf das implantierte Netz wird heutzutage als chronische Wunde verstanden, die über mehrere Jahre an der Grenzfläche des Netzes zum umliegenden Gewebe persistiert. Die Fibrosierung als ein Resultat der Entzündungsreaktion hat einen erheblichen Einfluss auf die Langzeitergebnisse der Hernienreparation (Höfling 2006). Aufgrund dieser Annahme muss für die zukünftige Materialforschung neben den Anforderungsmustern an die Textilkonstruktion die Betrachtung von Grenzflächenphänomenen ganz im Vordergrund stehen. Grenzflächen können hydrophil, hydrophob, kristallin, amorph oder rau sein. Durch spezifische Modifikationen der Materialoberfläche können antibakterielle, antithrombogene, antiinflammatorische oder antiproliferative Eigenschaften erzeugt und so die Fremdkörperreaktion und das Einheilungsverhalten beeinflusst werden (Weyhe 2009).

Die Biomaterialforschung ist heute, wie auch die Hernienimplantatforschung, interdisziplinär in den Forschungsbereich „Tissue Engineering - Regenerative Medizin“ eingebettet, der als Vision die möglichst vollständige Synthese von Geweben und Organen hinsichtlich Form und Funktion verfolgt (Schantz JT 2008).

### 1.5 Aktuelle Problemstellungen der Hernienchirurgie

Die enorm hohe Inzidenz von allein etwa 200.000 Leistenhernienoperationen und geschätzten 40.000 Narbenherniotomien in Deutschland bzw. 20 Millionen weltweit sowie die geschätzten Kosten von etwa 2,5 Mrd. US-Dollar jährlich für die Versorgung von Inguinalhernien in den USA offenbaren die immense volkswirtschaftliche Bedeutung und die damit verbundene erhebliche Relevanz von klinischer und experimenteller Hernien- und Biomaterialforschung (Costello et al. 2007, Schumpelick et al. 1997b, Schumpelick et al. 1997a, Mavros et al. 2011, Rutkow 2003, Geissler und Anthuber 2011).

Durch den Einsatz von Fremdmaterialien zur Verstärkung der Bauchwand hat sich das postoperative Komplikationsspektrum in eine neue Richtung verschoben. Stand bei den netzfreien Verfahren vor allem die Rezidivquote im Fokus, so sind durch die alloplastischen Implantate vor allem die in Tabelle 2 aufgeführten Komplexe kurz- und/oder langfristig von entscheidender Bedeutung (Binnebosel et al. 2011, Forbes et al. 2009, Höfling 2006, Jin et al. 2009, Junge et al. 2012, Leber et al. 1998, Snyder et al. 2011).

*Tabelle 2: aktuelle Problemkomplexe der Hernienchirurgie*

1. Langzeit- Biokompatibilität des Implantats und Fibrosierung
2. Mechanische (Langzeit-) Stabilität
3. Kalzifikation und Netzerfall
4. Netzschrumpfung
5. Schmerzsyndrome (chronisch persistierende)
6. Infektionsresistenz
7. Induktion von Adhäsionen und Fisteln
8. Serombildung
9. Fixationstechniken
10. Rezidivproblem

Von den aufgeführten Problemkomplexen sind die vier erstgenannten vorwiegend materialbedingt, die übrigen Komplexe zu wesentlichen Teilen material- und technikbedingt. Das früher postulierte karzinogene Potential der verwendeten Materialien kann retrospektiv mit den Erkenntnissen aus einem enormen, über einen langen Zeitraum gewonnenen,



Patientenkollektiv als weitgehend vernachlässigbar angesehen werden (Ghadimi et al. 2002). Die genauen Ursachen und Mechanismen der genannten Komplikationen sind bis heute noch nicht vollständig verstanden und Gegenstand aktueller Forschung. Auch individuelle, patientenspezifische Faktoren müssen heute als relevant angesehen werden (Klosterhalfen et al. 2000). Hierzu zählen hauptsächlich Bindegewebserkrankungen mit Störungen im Kollagenstoffwechsel, genetische Faktoren, Nikotinabusus, Leberzirrhose und ein erhöhter intraabdomineller Druck (Reinpold 2008, Ritz 2006).

Die Fibrosierung und Netzschrumpfung sind eng miteinander verbundene Probleme. Durch Granulombildungen entsteht eine Narbenplatte um das implantierte Netz. Dadurch wird es steif und unflexibel, was mit einer eingeschränkten Bauchwandfunktion und somit reduzierten Lebensqualität einhergeht. Die das Netz einbettende Narbenplatte führt dabei auch zur Schrumpfung des Netzes.

## **1.6 Materialinnovation: Bakteriell synthetisierte Nanocellulose**

Cellulose ist ein natürlich vorkommendes lineares Homopolymer der Glucose, das nach dem Viskoseverfahren hergestellt werden kann und einen nahezu unerschöpflichen Rohstoff darstellt. Es ist wasserunlöslich und wird in menschlichem oder tierischem Gewebe nur limitiert gespalten, da spezifische Hydrolasen zur Spaltung der Beta (1-4)- Verbindung fehlen (Martson et al. 1999). Der heutige Forschungsschwerpunkt im Bereich der Cellulose liegt bei der Isolierung, Charakterisierung und Anwendung von neuartigen Cellulose Typen, die häufig als Nanokristalle, Nanofibrillen oder Nanofasern bezeichnet werden. Bei der Bottom-up-Produktion werden Cellulosenanofibrillen aus Traubenzucker durch Bakterien hergestellt. Solche isolierten Cellulosematerialien mit einer Dimension im Nanometerbereich werden als Nanocellulosen bezeichnet (Klemm et al. 2011). Diese Nanocellulosen vereinigen auf beeindruckende Weise wichtige Eigenschaften der Cellulose wie Hydrophilie und breite chemische Modifizierbarkeit mit den typischen Besonderheiten von Nanomaterialien, die hauptsächlich durch deren sehr große Oberfläche bedingt sind (Klemm et al. 2001).

Bakteriell synthetisierte Nanocellulose (BNC) ist ein neuartiges Biopolymer, das in nur einem Schritt aus Zucker gewonnen werden kann. Aufgrund seiner Faserstruktur im Nanometerbereich besitzt BNC besondere Eigenschaften, die gegenüber pflanzlicher Cellulose

und teilweise auch gegenüber synthetisch hergestellten Polymeren eine Vielzahl von entscheidenden Vorteilen mit sich bringen. Eigenschaften, die das Material insbesondere für (bio)medizinische Anwendungen interessant machen, sind: hohe Reinheit, *In-situ*-Formbarkeit, hoher Polymerisations- und Kristallinitätsgrad, hohes Wasseraufnahme- und Wasserrückhaltevermögen, große innere Oberfläche durch nanofasriges Netzwerk, hohe mechanische Stabilität sowie Zug- und Reißfestigkeit (Kralisch et al. 2010). Das hohe Potential von BNC, mikrovaskulär vollständig durchbaut zu werden, wird u. a. im Zusammenhang mit Gefäßimplantaten besonders hervorgehoben (Klemm et al. 2001).

BNC wird als einzige Komponente des Biofilms von gram-negativen, aeroben Bakterien wie Essigsäurebakterien der Gattung *Gluconacetobacter* (*Acetobacter xylinum*) an nichttoxischen Oberflächen an der Grenzfläche zwischen Luft/Nährmedium in Form von Vliesen gebildet und überwiegend mittels Standkultivierung gewonnen. Die Stoffwechselprodukte von Bakterien dieser Gattung wurden erstmals von A. J. Brown im Jahre 1886 beschrieben (Brown 1886a, Brown 1886b). Das resultierende formstabile BNC-Hydrogel besteht aus einem Nanofasernetzwerk (Faserdurchmesser 20-100 nm), das bis zu 99 % Wasser bindet (Klemm et al. 2011). Mithilfe eines neuartigen Horizontal-Lift-Reaktors (HoLiR) konnte ein effizienter Prozess zur kontinuierlichen Kultivierung planarer BNC-Vliese in frei wählbarer Länge und einstellbarer Dicke entwickelt werden, wodurch die Übertragung des Kulturverfahrens in den kleintechnischen Maßstab erfolgreich demonstriert werden konnte (Kralisch et al. 2010). Mit Ausbeuten von bis zu 40 % bezogen auf das Edukt D-Glucose ist die Produktion von BNC hoch effizient (Klemm et al. 2001).

Die chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften von BNC gelten in ihren Grundzügen nach intensiver Beforschung als hinreichend charakterisiert (Petersen und Gatenholm 2011). In verschiedenen innovativen biomedizinischen Anwendungen konnten die Vorteile von BNC hinsichtlich mechanischer Eigenschaften und Biokompatibilität unter Beweis gestellt werden. Zu diesen Anwendungen zählen beispielsweise Gefäß-, Tracheal- und Meniskusimplantate, Ersatz und Matrix für Knochen- und Knorpelgewebe sowie die Versorgung von Urothel-Defekten (Klemm et al. 2011, Klemm et al. 2001, Klemm et al. 2009, Petersen und Gatenholm 2011, Bodin et al. 2010, Bodin et al. 2007b, Esguerra et al. 2010, Fink et al. 2011, Panerari et al. 2008, Wippermann et al. 2009). Eine einzige Studie beschreibt bisher den Einsatz von BNC (produziert von *Zoogloea sp.*) als BWE ((Falcao et al. 2008b, Falcao et al. 2008a), siehe Kapitel 5). Aufgrund der insgesamt günstigen Eigenschaften insbesondere in

Bezug auf die Biokompatibilität und nicht zuletzt aufgrund der mechanischen Stabilität erscheint BNC prinzipiell sowohl als Hernienimplantat in Sublay-Position als auch für den Bauchwandersatz durchaus geeignet.

## 2. Ziele der Arbeit

Hernienoperationen gehören zu den häufigsten allgemeinchirurgischen Eingriffen. In ihrer Versorgung wird in den meisten Fällen der Einsatz eines alloplastischen Hernienimplantats erforderlich. Trotz aller Verbesserungen der hernienbezogenen Materialforschung sind die Hauptprobleme der Hernienversorgung noch immer materialkorreliert und stehen in einem direkten Zusammenhang mit der Biokompatibilität des verwendeten Materials.

Schwerwiegende infektiöse Komplikationen und Schmerzsyndrome sind die gravierendsten potentiell materialabhängigen Probleme, die durch geeignetere, d. h. optimal biokompatible Implantate besser beherrscht bzw. vermieden werden könnten.

BNC wurde bereits erfolgreich in verschiedenen medizinischen Anwendungen eingesetzt und zeigte dabei stets günstige Ergebnisse im Hinblick auf die Biokompatibilität. In der Hernienversorgung und beim Bauchwandersatz wurde es bisher kaum untersucht. Die theoretischen Überlegungen zu diesem Material machen es jedoch auch für dieses Einsatzgebiet durchaus interessant.

Um die Biokompatibilität, die klinischen Eigenschaften, das Einwachsverhalten und die mechanische Stabilität sowie deren Veränderung durch Körperflüssigkeiten detailliert untersuchen zu können, wurden in dieser Studie In-vivo-Analysen nach Implantation in Sublay-Position und als muskulo-faszialer Bauchwandersatz im Rattenmodell durchgeführt.

Ziel in beiden Modellen war die Beurteilung eines potentiellen klinischen Einsatzes im Sinne eines „Proof-of-Concept“-Ansatzes. Durch umfassende immunhistochemische und konventionelle Färbetechniken, mechanische Zugprüfungen sowie den Vergleich mit Literaturdaten bei anderen Anwendungsfeldern, sollten weiterführende Anhaltspunkte für einen potentiellen klinischen Einsatz dieses innovativen Biopolymers herausgearbeitet werden. Die Ergebnisse sollten die Grundlage für eine anschließende weitere experimentelle und schließlich klinische Evaluation darstellen.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Bakteriell synthetisierte Nanocellulose (BNC)

Die hier verwendete BNC wurde von der POLYMET Jena e. V. (POLYMET Jena, Polymers for Science, Medicine, Technology; Wildenbruchstr. 15, 07745 Jena) bezogen. Die gelieferten Proben wurden im kleintechnischen Maßstab auf der Basis eines Standkulturverfahrens speziell für den hier geplanten wissenschaftlichen Zweck hergestellt (5 steril verpackte BNC-Vliese, Ø 90 mm, Dicke ~ 1.0 – 1.5 mm, never-dried in isotonischer Kochsalzlösung; 10 steril verpackte BNC-Vliese, ~ 45 mm x 45 mm, Dicke ~ 1.5 – 2.00 mm, never-dried in isotonischer Kochsalzlösung; Bakterienstamm: *Gluconacetobacter xylinus*, DSM 14666, Nährmedium: Hestrin-Schramm, Kultivierungsdauer: 14 Tage, Kultivierungstemperatur: 28°C, Impflösung: 7 Tage alte Vorkultur/Hestrin-Schramm-Nährmedium). Die dünnere Variante sollte als Hernienimplantat in Sublay-Position dienen, die dickere als Bauchwandersatz. Beide wurden unter Laborbedingungen entsprechend der geplanten Implantationstechnik rund (BWE) bzw. rechteckig (Sublay) zugeschnitten.

#### 3.2 Studiendesign und Pilotversuch

Für die Studie wurden 20 männliche Ratten vom LEWIS-Stamm in zwei unterschiedliche Versuchsgruppen mit je 10 Tieren unterteilt.

In der ersten Gruppe wurde BNC als Material für die Hernienversorgung untersucht. Die zweite Gruppe diente der Untersuchung von BNC als Bauchwandersatz (Tabelle 3).

*Tabelle 3: Einteilung der Versuchsgruppen*

Gruppe	Anzahl der Tiere	Verfahren
1/Sublay	10	BNC-Sublay (beide Rektusscheiden)
2/BWE	10	BNC BWE (median/paramedian links)

Nach einer Beobachtungszeit von 90 Tagen erfolgten die Explantation und die anschließende Tötung der Tiere unter Vollnarkose.

Die Tierversuche wurden mit Genehmigung gemäß § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes sowie in

Abstimmung mit den lokalen Behörden (Thüringer Landesamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz, Bad Langensalza, Reg.-Nr. 02-020/11) durchgeführt.

Um die Durchführbarkeit der erdachten Versuche zu verifizieren und einen optimalen Ablaufplan für die Hauptversuche zu erstellen, wurde vorab ein Pilotversuch mit zwei Tieren (Sublay und BWE, Beobachtungszeit 2 Wochen) unter gleichen Bedingungen durchgeführt.

### **3.3 Tierversuchsmodell**

#### **3.3.1 Versuchstiere und Haltebedingungen**

In der internationalen experimentellen Hernienchirurgie haben sich, aufgrund der anatomischen Ähnlichkeiten der Rektusscheide zum Menschen, Ratten als Goldstandard für In-vivo-Untersuchungen durchgesetzt (van't Riet et al. 2004, Burger et al. 2006, Petter-Puchner et al. 2011b). Um dem wissenschaftlichen Standard zu entsprechen und eine Vergleichbarkeit mit anderen Arbeitsgruppen zu gewährleisten, wurden daher 20 männliche Ratten vom LEWIS-Stamm (Fa. Charles River Deutschland, Sulzfeld) verwendet.

Die Versuche sowie die Haltung der Tiere erfolgten im Institut für Experimentelle Transplantationschirurgie (Direktorin: Prof. Dr. U. Dahmen) des Universitätsklinikums Jena.

Bei Versuchsbeginn wogen die Tiere 244 bis 338 g und waren zum Operationszeitpunkt 12 Wochen alt. Mindestens 5 Tage vor Aufnahme in den Versuch wurden die Tiere angeliefert und in Gruppen von jeweils vier Tieren in Makrolon-Käfige eingesetzt. Diese Akklimatisierungsphase gewährleistet eine Anpassung der Tiere an ihre Umgebung sowie einen mikrobiellen Abgleich untereinander. Die Tiere wurden im Folgenden bei einer Raumtemperatur von 21 °Celsius und einer Luftfeuchte von ca. 60 % bei konstantem Luftwechsel gehalten. Als Nahrung standen den Ratten spezielles Haltungsfutter (Standard Diät, Ratten und Mäuse 1324, Fa. Altromin, Lage/Deutschland) und Leitungswasser aus der Nippeltränke ad libitum zur Verfügung. Ein Beleuchtungsprogramm mit einer zwölf-Stunden-Taktung erzeugte einen Wechsel zwischen Hell- und Dunkelphasen.

### 3.3.2 Operatives Vorgehen

#### Prämedikation, Narkose, Vorbereitung und Lagerung

Unmittelbar vor Operationsbeginn wurde den Tieren 0,05 mg/kg Buprenorphin (Temgesic®, Fa. Essex Pharma) s.c. zur Analgesie injiziert. Alle Operationen wurden in Inhalationsnarkose mit 2,5 bis 3,0 % Isofluran (Forene®, Fa. Abbot) und 0,5 l/min Sauerstoff mit Hilfe eines Narkosegeräts (VÖLKER, Kaltenkirchen) in einem halbgeschlossenem Kreissystem durchgeführt. Zur Anästhesieeinleitung wurden die Tiere zunächst in eine durchsichtige Ganzkörperkammer gesetzt, welche in das Kreissystem eingebaut ist. Um eine möglichst schnelle Narkoseeinleitung zu ermöglichen und so eine Stressreaktion des Tieres zu minimieren, wurde die Kammer ca. eine Minute lang mit Isofluran 5 % und 0,8 l O<sub>2</sub>/min vorgeflutet. Sobald eine ausreichende Narkostiefe erreicht war, erfolgten das präoperative Wiegen und die Rasur des Abdomens. Anschließend wurde die Ratte auf dem Operationstisch auf einem Magnetbrett mit Korkauflage in Rückenlage mit Klebestreifen an jeder Extremität vorsichtig fixiert und die Narkosemaske zur Aufrechterhaltung der Anästhesie über die Schnauze gestreift (Abb. 1).

Als abschließender Schritt der OP-Vorbereitung wurde das Operationsfeld mit Cutasept® zweimalig desinfiziert und anschließend steril abgedeckt.

Alle Operationen wurden mit mikrochirurgischen Instrumenten der Fa. Aesculap, Tuttlingen, unter sterilen Bedingungen durchgeführt.

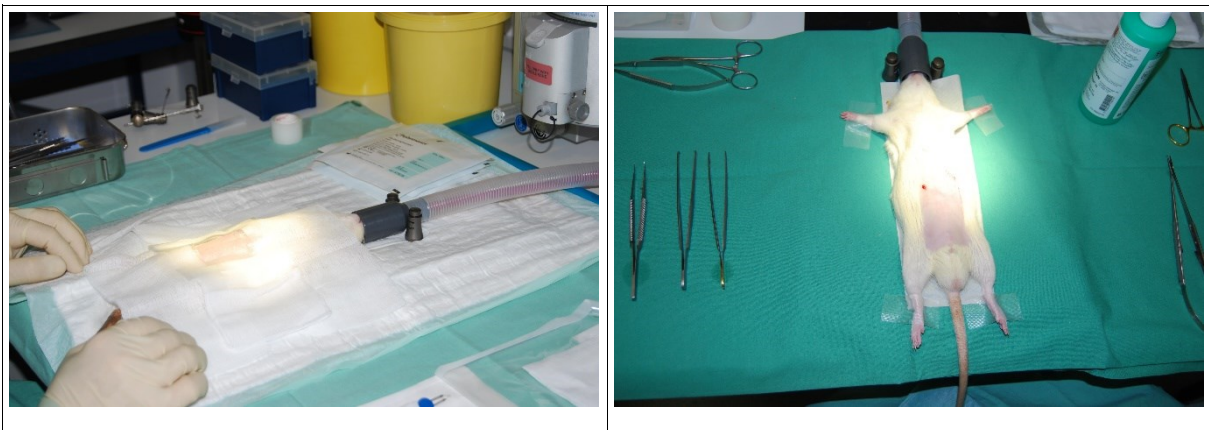


Abbildung 1: narkotisiertes Tier nach Abschluss der Vorbereitungen bereit zur Operation

#### Operatives Vorgehen Hernienversuch

Durch einen kutanen Medianschnitt wurde die Haut des Abdomen von 1 cm unterhalb des Xiphoids bis 1 cm oberhalb des Penisansatzes inzidiert (Abb. 2a). Daran anschließend erfolgte

die Mobilisation der Subcutis bis zur lateralen Begrenzung der Rektusscheiden (Abb. 2b) und das Einsetzen eines Hakensystems zum kontinuierlichen Beseitehalten der Hautlappen. Nach erfolgter Blutstillung durch Elektrokoagulation wurde die Rektusscheide beidseits etwa 2 - 3 mm von der Linea alba entfernt auf einer Länge von 45 mm eröffnet. Durch vorsichtiges Anheben bei gleichzeitiger Lateralisierung des Rektusbauches ließ sich nun ein abgeschlossenes präperitoneales Kompartiment im Sinne einer Sublay-Position wie beim Menschen präparieren (Abb. 2c, d, (Tanaka et al. 2007)). Das hintere Faszienblatt ist im Vergleich zum Menschen nur schwach ausgebildet, wodurch bei diesem Schritt besondere Vorsicht geboten war, um das Setzen eines Peritonealdefektes zu vermeiden.

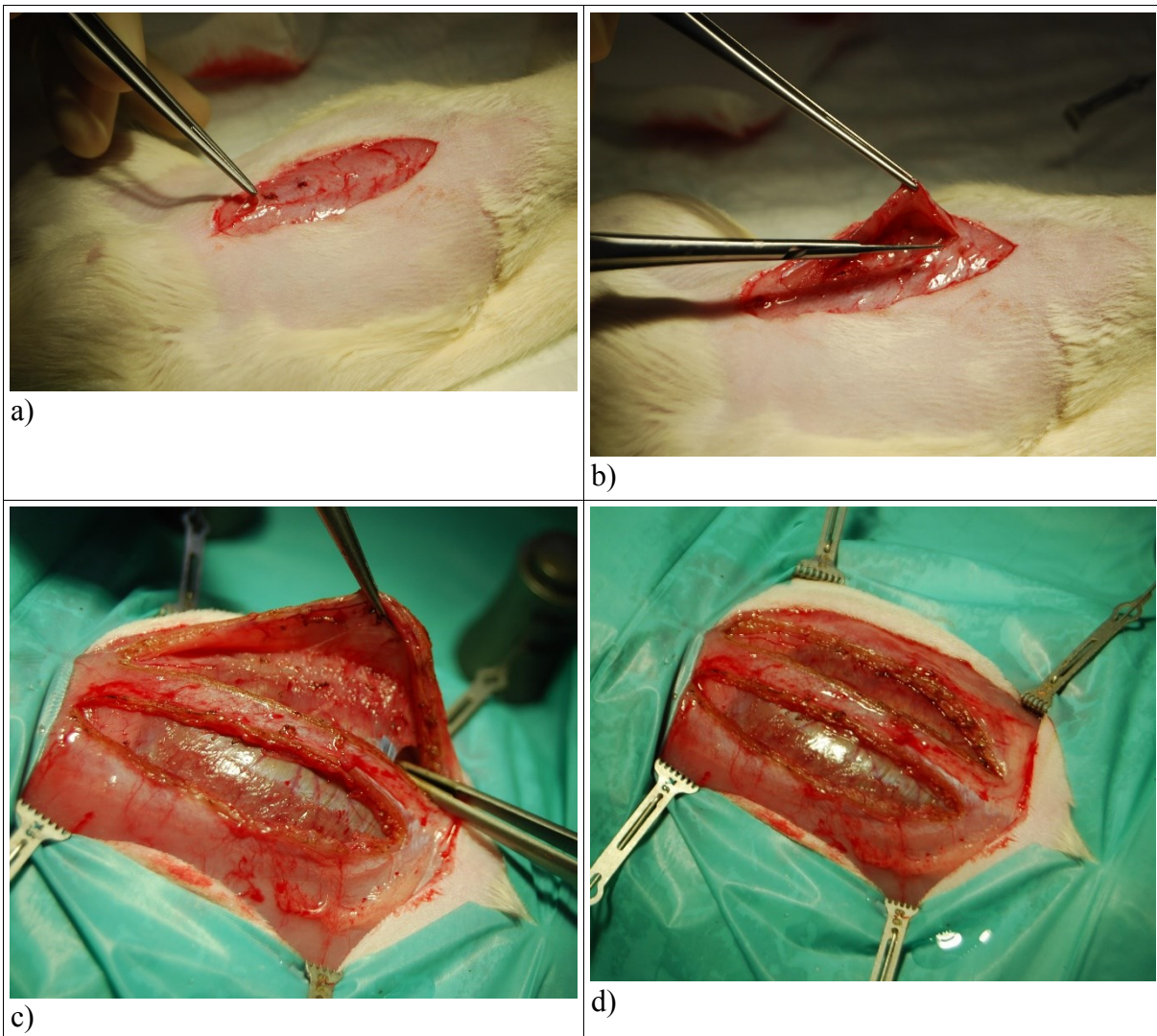
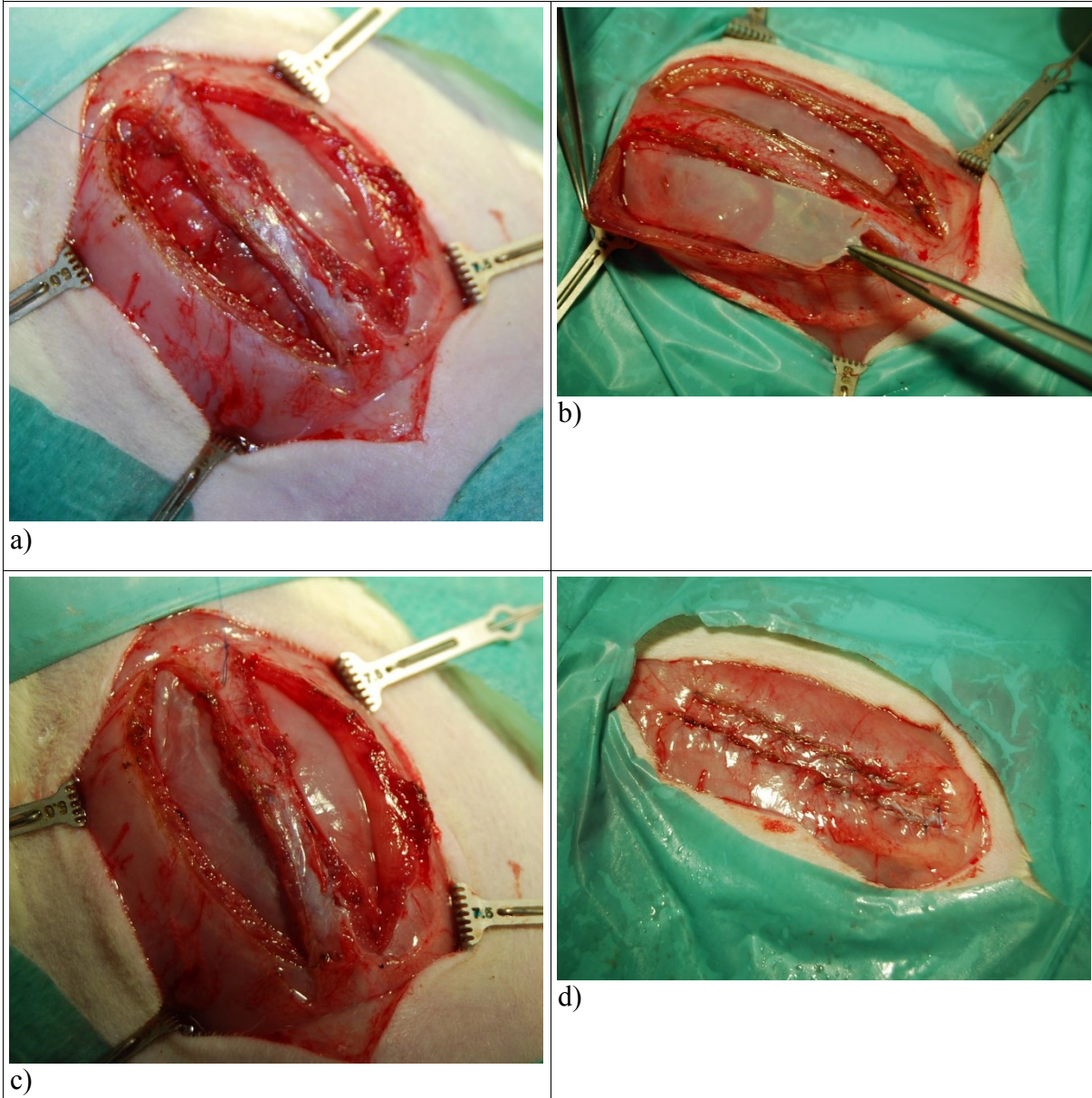


Abbildung 2: Operationstechnik Hernienversuch: a) medianer Hautschnitt, b) Inzision des M. rectus abdominis, c) bds. eröffnete Rektusscheide, d) präparierte Rektusscheide bds.

In die auf diese Weise entstandenen Taschen zwischen hinterem Faszienblatt und Rektusmuskulatur wurde nun das auf eine Größe von 4 x 1 cm zurechtgeschnittene BNC-Implantat eingelegt (Abb. 3a-c). Nach planer und faltenfreier Ausbreitung des Implantats



mittels kleiner Stiltupfer, wurde die Muskulatur der eröffneten Rektusscheide durch eine fortlaufende Naht mit MOPYLEN® 6/0 USP (Fa. Resorba, Nürnberg, Deutschland) wieder verschlossen (Abb. 3d). Um Adhäsionsartefakte durch zusätzliche Nähte zu vermeiden, wurde bewusst auf eine Nahtfixierung des BNC-Streifens verzichtet. Auf der anderen Seite wurde in analoger Weise vorgegangen.



*Abbildung 3: Operationstechnik Hernienversuch: a) BNC-Streifen in rechter Rektusscheide platziert, b) Einlegen des BNC-Streifens in linke Rektusscheide, c) BNC-Streifen in Sublay-Position eingelegt, d) fortlaufend verschlossene Rektusscheide bds. nach BNC Implantat*

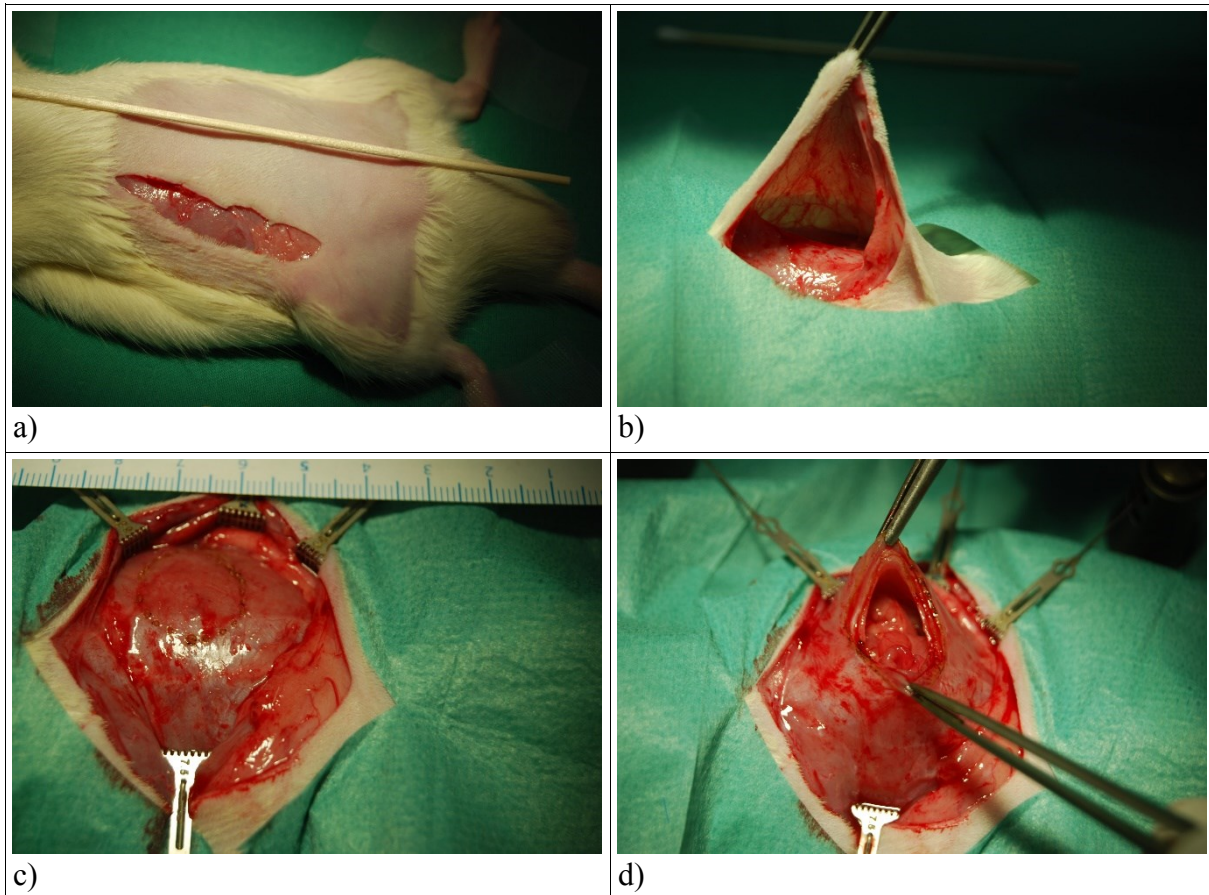
Nach subcutaner Spülung mit NaCl 0,9 % erfolgte der abschließende Nahtverschluss der Cutis mittels PGA RESORBA® 3/0 USP (Fa. Resorba, Nürnberg, Deutschland) als fortlaufende Naht mit zusätzlichen 4 EK-Nähten zur Nahtsicherung.

Nach intramuskulärer Piperacillin-Injektion zur antibiotischen Abschirmung und der Gabe von nochmals 0,05 mg/kg Temgesic® s.c. zur postoperativen Analgesie, wurden die Tiere zurück in den Käfig gesetzt und die Vitalzeichen für ca. 30 Minuten beobachtet.

#### Operatives Vorgehen Bauchwandersatz

Um beim Bauchwandersatzversuch eine komplette Überdeckung des BWE mit Gewebe gewährleisten zu können und um durch das Fernhalten der Hautnaht aus dem Defektfeld das Infektionsrisiko zu minimieren, erfolgte der Hautschnitt 2 cm rechts der Mittellinie und reichte von 1 cm unterhalb des Rippenbogens bis 0,5 cm oberhalb des kranialen Anteils der Inguinalfalte (Abb. 4a). Nach erfolgter Blutstillung wurde die abdominale Haut und das Subcutangewebe mobilisiert, zur linken Körperseite verlagert und mittels Retraktorsystem zur Seite gehalten, so dass die ventrale Faszienfläche der Bauchwand beinahe vollständig exponiert wurde (Abb. 4b). Unterhalb der zur Seite verlagerten Haut wurde nun ein kreisrundes Areal mit 2 cm Durchmesser mittels Lineal ausgemessen und durch Elektrokoagulation punktförmig auf der Faszie markiert. Dieses Areal stellte das später zu deckende Defektgebiet dar (Abb. 4c).

Anschließend erfolgte im markierten Bereich eine vollständige und vollwandige Bauchwandresektion inkl. des Peritoneums mit entsprechender Blutstillung mittels Elektrokauter (Abb. 4d).



*Abbildung 4: Operationsverfahren Bauchwandersatz: a) lateraler Hautschnitt, b) angehobene Haut und Sicht auf die Rektusmuskulatur, c) mittels Elektrokoagulation markierter Bereich für Bauchwanddefekt, d) Defekt in Bauchwand mit Sicht auf die Darmschlingen*

Der sich nun darstellende kreisrunde Defekt wurde im Anschluss daran durch ein zuvor kreisrund zurechtgeschnittenes 2,2 cm im Durchmesser messendes BNC-Patch verschlossen (Abb. 5a, b). Die Implantation erfolgte im Sinne einer Inlay-Plastik zunächst mit einer punktförmigen Fixation des Implantatrandes an 4 Punkten (Abb. 5c, d) und daran anschließend mittels fortlaufender Einnäht der Sektoren des Implantats mit MOPYLEN® 6/0 USP (Fa. Resorba, Nürnberg, Deutschland). Nach vollständiger Verankerung in der Bauchwand und anschließender Spülung des Wundgebiets mit NaCl 0,9 %, erfolgte ein schichtweiser Laparotomieverschluss. Hierbei wurde zunächst eine fortlaufende Naht der Subkutis lateral auf Höhe des Hautschnitts mit MOPYLEN® 6/0 vorgenommen. Nach der so erreichten Kompartimentierung der epifaszialen Bedeckung des BNC-Patches wurde die Haut rückverlagert und mit PGA RESORBA® 3/0 in fortlaufender Naht mit zusätzlichen 4 Einzelknopfnähten zur Nahtsicherung verschlossen (Abb. 5e, f).

Die postoperative antibiotische Absicherung und Analgesie erfolgte analog zum Hernienversuch.



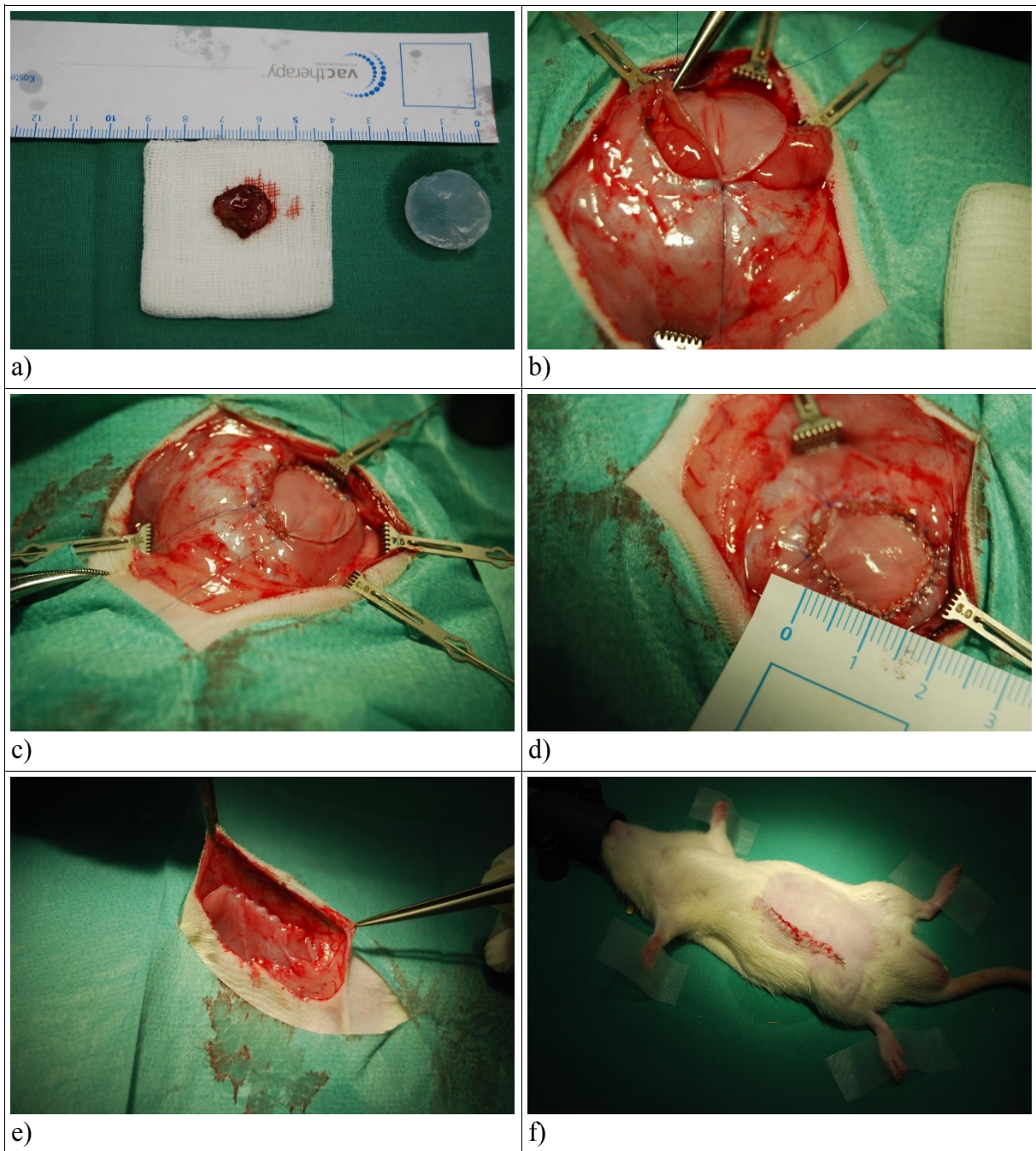


Abbildung 5: Operationsverfahren Bauchwandersatz: a) explantierte Bauchwandmuskulatur (retrahiert) und zu implantierendes BNC-Patch, b) Deckung des Bauchwanddefekts durch BNC-Patch, c) allschichtiges Einnähen des Patches in die Muskulatur/Faszie, d) fertig implantiertes BNC-Patch, e) Verschluss des subcutanen Kompartiments (fortl. Naht), f) mittels fortlaufender Hautnaht verschlossenes Abdomen

### 3.3.3 Postoperative Betreuung und Verlaufskontrolle

In der postoperativen Beobachtung wurde anhand eines Aktivitätsscores (Tabelle 4),

engmaschiger Körpergewichtskontrollen und initial täglicher Kontrollen der Wunden insbesondere auf Infektionszeichen, sichtbare Fremdkörperreaktionen, Serome, unverhältnismäßige Gewichtsabnahmen und Anzeichen von Schmerzen geachtet.

#### Erfassung der Körpergewichtsentwicklung

Zur Beobachtung des Gewichtsverlaufs wurde jedes Tier unmittelbar vor der Operation gewogen und dieser Wert als Ausgangswert verwendet. Im postoperativen Verlauf wurden die Tiere initial täglich gewogen. Nach 14 Tagen wurde das Wiegen in einem zweitägigen Abstand weitergeführt. Im Laufe des Experimentes wurde dieses Intervall von 4-tägig über 7-tägig bis auf einen Abstand von 14 Tagen erweitert.

#### Aktivitätsscore

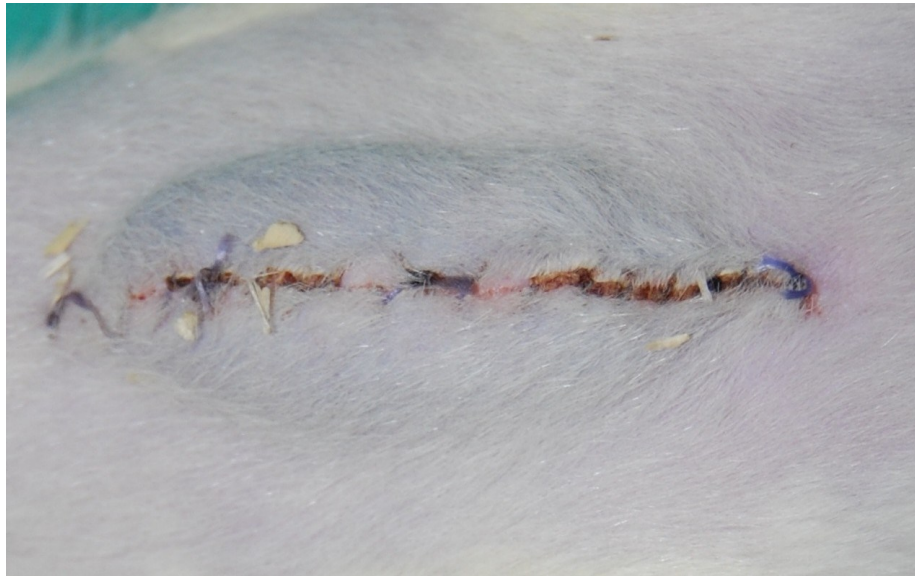
Die Tiere wurden initial täglich über einen kurzen Zeitraum beobachtet und anhand ihrer Aktivität in einem Score (Tabelle 4) bewertet. Wies ein Tier einen Wert kleiner 2 auf, wurden 0,1mg/kg Buprenorphin (Temgesic®, Fa. Essex-Pharma) s.c. zur Schmerzmedikation verabreicht.

*Tabelle 4: Aktivitätsscore*

0	tot
1	ausreichend
2	gut
3	ausgezeichnet

#### Serombildung

Während der postoperativen Gewichtskontrollen wurden die Narben und das Abdomen jeder Ratte differenziert inspiziert. Dabei aufgefallene flüssigkeitsgefüllte Erhabenheiten über dem Operationsgebiet (Abb. 6) wurden notiert und der weitere Heilungsprozess täglich kontrolliert.



*Abbildung 6: Serom im Bereich des implantierten BNC am 5. postoperativen Tag  
(Gruppe1, Tier Nr. BNC-01)*

#### 3.3.4 Ultraschalluntersuchungen

Um etwaige Umgebungsreaktionen, Serombildungen, Abszesse und insgesamt die Bauchdeckentextur mit der Lage des BNC-Patches besser und valide detektieren bzw. beurteilen zu können, erfolgten am 10. und 31. postoperativen Tag sowie am Versuchsende (90. Tag) Ultraschallkontrollen.

Bei beiden Versuchsgruppen erfolgte zunächst eine Globalbeurteilung der gesamten Bauchdecke im Quer- und Längsschnitt. Im Hernienmodell wurde anschließend eine seitengetrennte ventrodorsale Dickenmessung an repräsentativen Stellen im mittleren Abschnitt des Sublay-Kompartiments im Längsschnitt durchgeführt. Da diese Untersuchungsmethode in vergleichbaren experimentellen Studien bislang nicht publiziert wurde, blieb jede Festlegung dem Ermessen überlassen. Als reproduzierbar erkennbare Landmarken für die Dickenmessung wurden daher die bei der Ratte am einfachsten zu identifizierenden Linien gewählt. Dorsal wurde das Peritoneum sowie ventral der Übergang des Subcutangewebes zur Haut bzw. die Haut festgelegt.

Die gemessene Dicke entspricht somit der Dicke des ganzen Kompartiments inkl. Muskulatur. Von ventral nach dorsal präsentierten sich so die Schichtungen Subcutis/Cutis - vorderes

Faszienblatt - Rektusmuskulatur - BNC-Patch - hinteres Faszienblatt/Peritoneum.

Diese gemessene Kompartimentdicke stellte bei diesen Untersuchungen den Surrogatparameter dar, mit dessen Hilfe auf eine mehr oder weniger ausgeprägte Entzündungsreaktion geschlossen werden sollte.

Die Untersuchungen erfolgten mit dem LOGIQe (GE Healthcare, Milwaukee, Wisconsin, USA) in einer B-Mode Standardeinstellung hinsichtlich Bildfrequenz, Kantenanhebung, Grauwertverteilung und Fokusposition (Abb. 7).

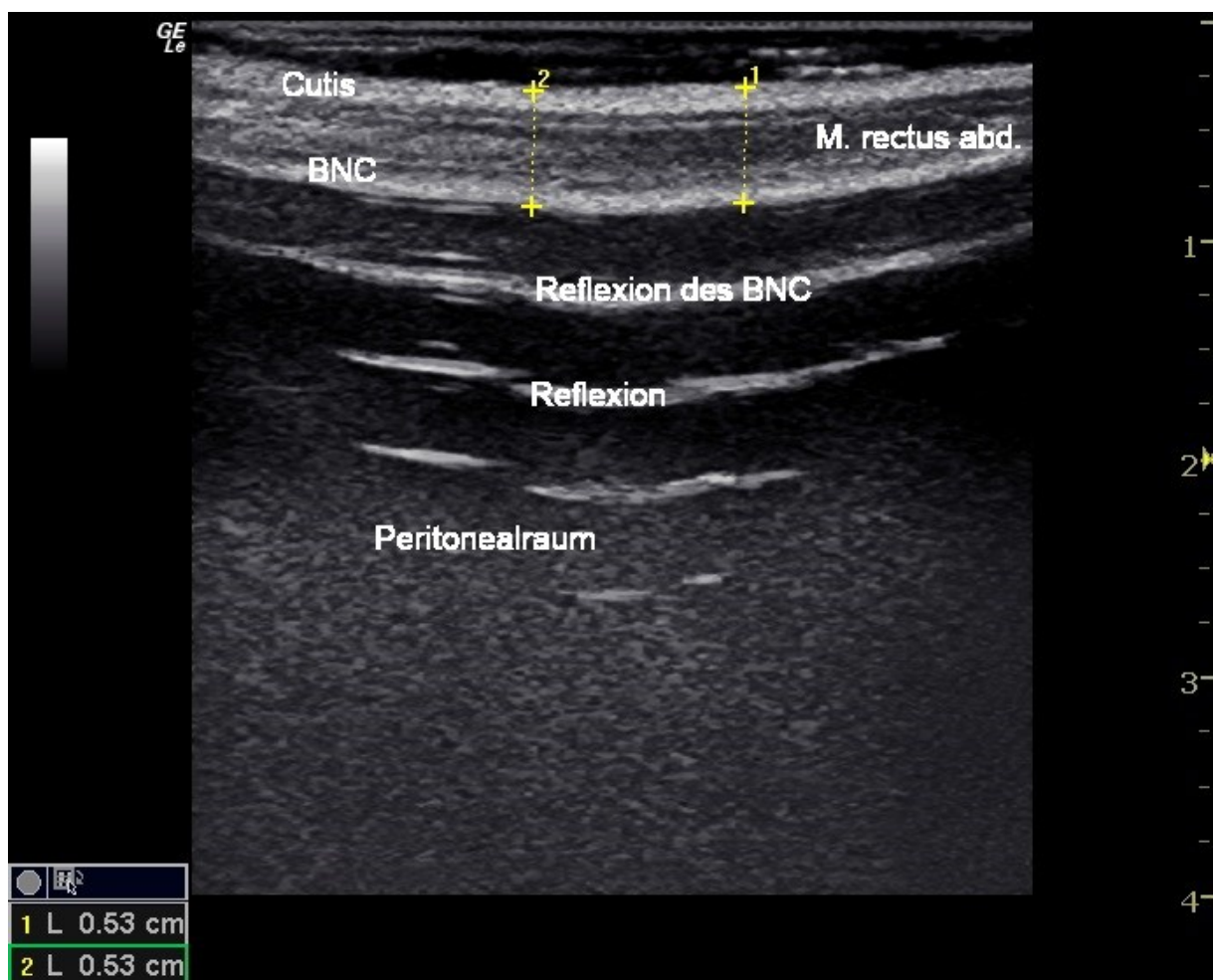


Abbildung 7: Messung des Haut-Material-Abstands im Ultraschall bei einem Hernienversuchstier zum Termin 3 am 90. postoperativen Tag (im Längsschnitt)



Im Bauchwandersatzmodell erfolgte zur Dickenmessung zunächst die Einstellung des sich ellipsoid darstellenden Patchareals im Längsschnitt. Die Dickenausmessung wurde daraufhin im Bereich der größten Patchausdehnung am rechten bzw. linken Drittelpunkt durchgeführt. Außerdem wurde die Patchbreite an der Stelle der größten Ausdehnung ausgemessen (Abb. 8).

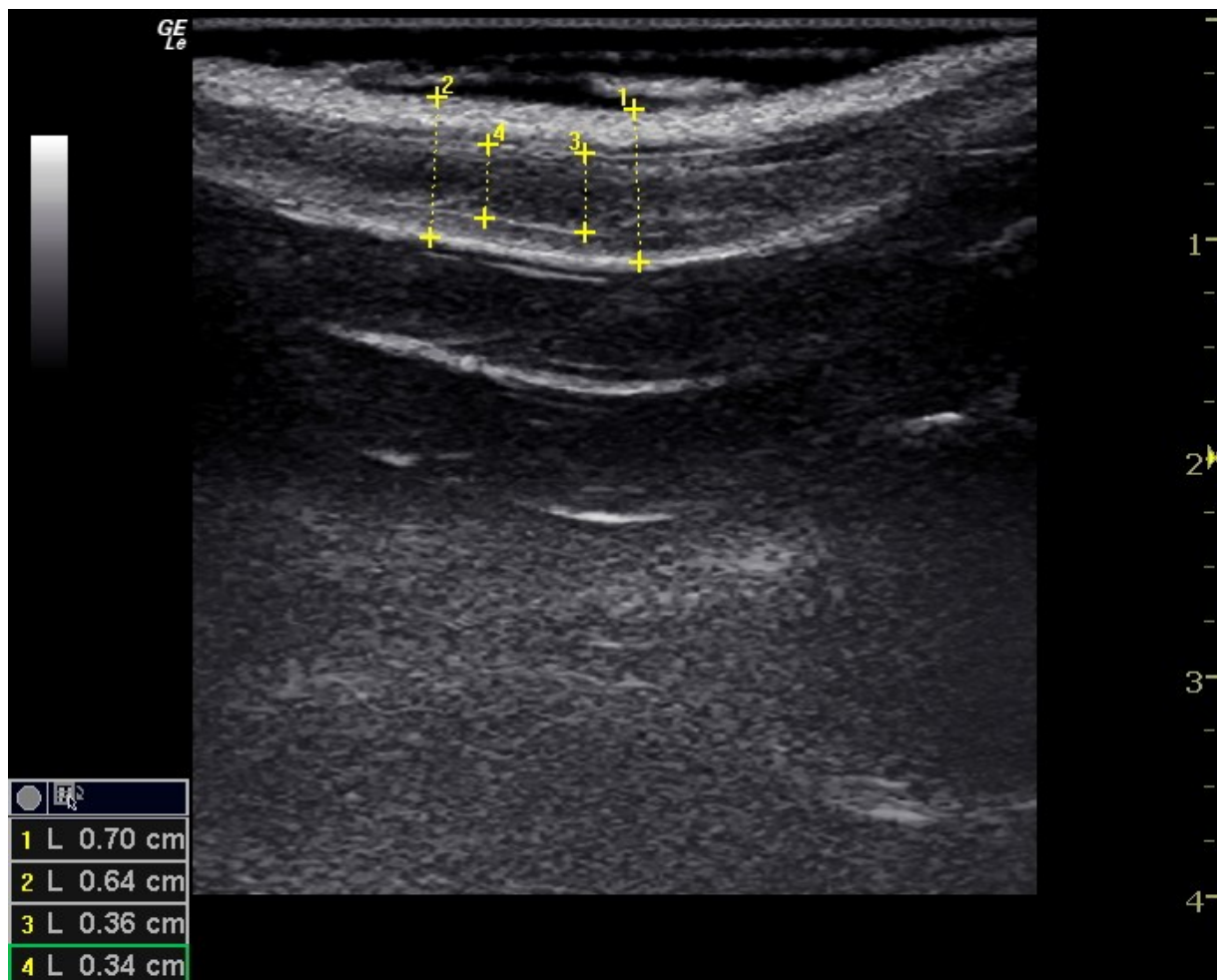


Abbildung 8: Messung des Haut-Material-Abstands im Ultraschall bei einem BWE-Tier zum Termin 3 am 90. postoperativen Tag

### 3.3.5 Versuchsende mit Probenentnahme und Scoring

Jeweils eine Stunde vor Versuchsende wurde den Tieren eine Injektion mit einem frisch hergestellten BrdU-Reagenz über die Penisvene verabreicht (Abb. 9, s. a. Kapitel 3.3.7).





Abbildung 9: Injektion des BrdU-Reagenz in die Penisvene eine Stunde vor Versuchsende

Nach Ablauf des dreimonatigen Versuchszeitraumes wurden die Tiere getötet. Sie wurden zunächst analog zum OP-Protokoll für den Eingriff vorbereitet und unter Inhalationsnarkose mit Isofluran auf dem OP-Tisch fixiert. Nach einer eingehenden makroskopischen Beurteilung der Narbenverhältnisse und der Überprüfung auf eventuell sichtbare Serome oder Entzündungszeichen inkl. Ultraschalluntersuchung, erfolgte die Durchtrennung der Hautnaht. Daraufhin wurde die Bauchwandmuskulatur der Ratte am linken lateralen Rand der Rektusscheide zunächst circa 4 cm längs durchtrennt und der Schnitt in Form eines gespiegelten C am kranialen und kaudalen Ende quer bis zum lateralen Rand der rechten Rektusscheide erweitert (Abb. 10a). Die schrittweise Schnittführung ermöglichte eine gute Beurteilung der Gewebeintegration (Abb. 10b) und intraabdomineller Adhäsionen für beide Seiten, ohne das eigentliche Kompartiment zu verletzen (Abb. 11, 12).

Bei der BWE-Gruppe wurde die Laparotomie weit rechts mit einem Längsschnitt begonnen und der mediane Anteil der Bauchdecke nach kranial verzogen, um eine erste Beurteilung der Adhäsionen zu ermöglichen. Anschließend wurden zur Exposition der vollständigen Bauchdecke kranial und kaudal Horizontalschnitte mit deutlichem Sicherheitsabstand zur Patchregion durchgeführt. Diese ermöglichten ein schrittweises Herüberklappen der Bauchdecke nach links.

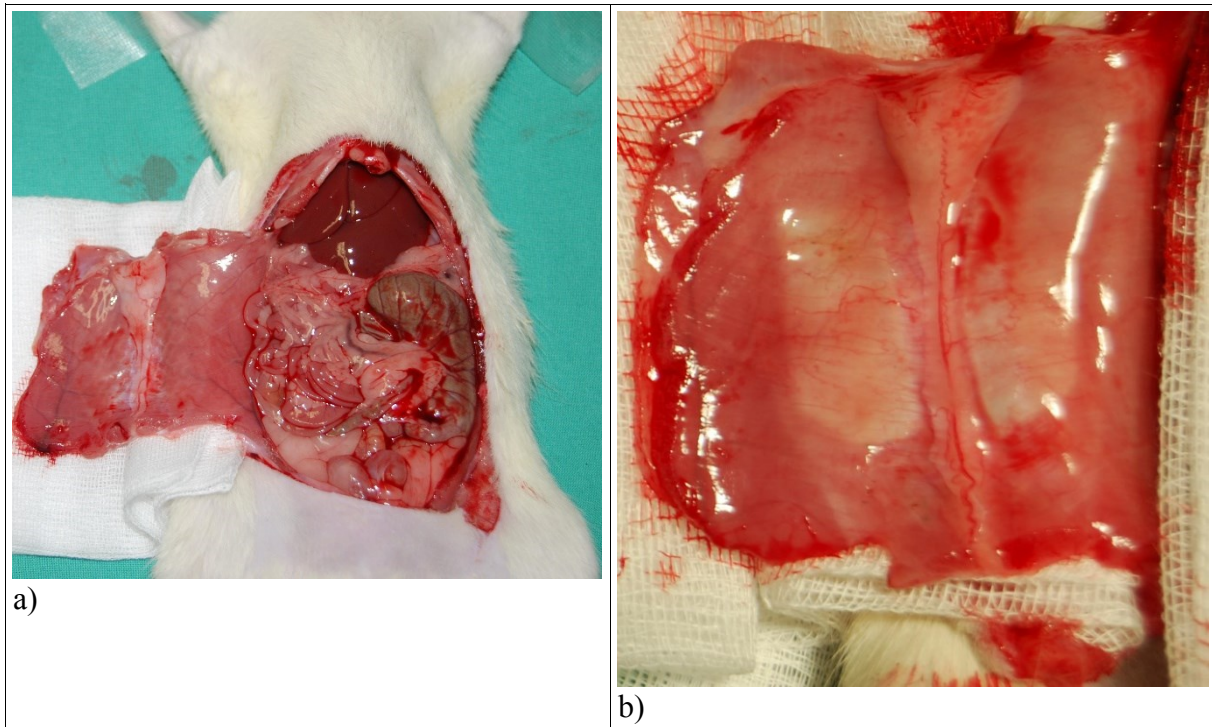


Abbildung 10: a) Schnittführung Versuchsende; b) Lage des implantierten BNC in der Rektusscheide zum Versuchsende (Gruppe 1)



Abbildung 11: Adhäsionsbeurteilung Hernienversuch

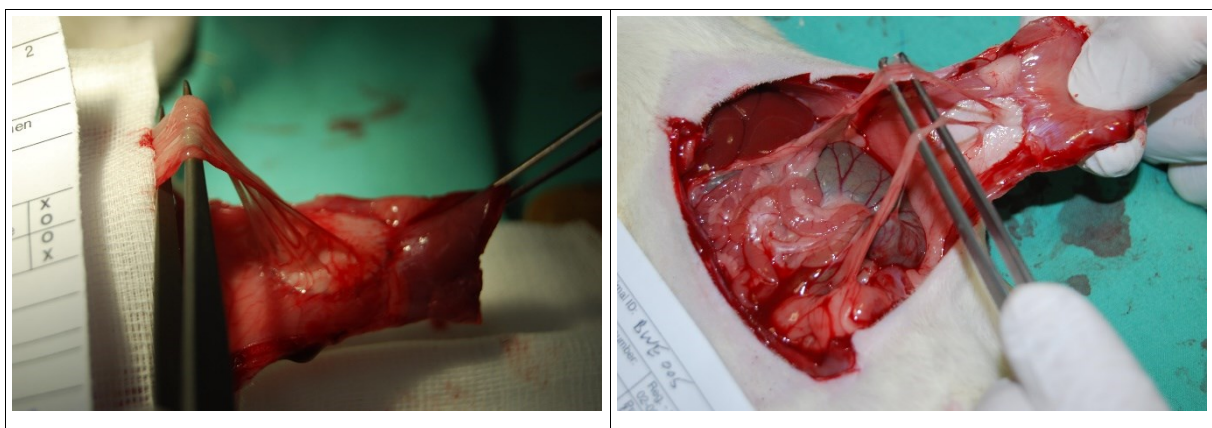


Abbildung 12: Adhäsionsbeurteilung Bauchwandersatz

Um Adhäsionen, die Integration des BNCs ins umliegende Gewebe und Entzündungszeichen möglichst genau zu quantifizieren, wurde jedes Tier standardisiert nach einem zuvor entworfenen Entnahmeprotokoll beurteilt. Trotz zahlreicher Hernienstudien im Rattenmodell gibt es kaum Ansätze, den Lokalbefund standardisiert zu beurteilen. Die Erarbeitung des Protokolls wurde durch bereits in der Literatur veröffentlichte Scores und Beurteilungsverfahren beeinflusst (Petter-Puchner et al. 2008a, Gruber-Blum et al. 2011, Petter-Puchner et al. 2011b) und umfasste die folgenden Kriterien und Einteilungen:

#### 1. Makroskopische Gewebeintegration:

- A - volle Gewebeintegration
- B - partielle Integration  $\geq 50\%$
- C - partielle Integration  $< 50\%$
- D - keinerlei Gewebeintegration

#### 2. Serombildung:

- A - keine
- B - beschränkt auf Netz
- C - „bubblelike“, über Netz hinausgehend

#### 3. Lokale Entzündungsreaktion (makroskopisch):

- A - keine Entzündung sichtbar
- B - minimale Anteile von Debris oder Pus
- C - Abszess

#### 4. Beurteilung der Adhäsionen

Adhäsionen sind aufgrund ihrer klinischen Bedeutsamkeit häufig fester Bestandteil tierexperimenteller Studien in der Hernienchirurgie (van't Riet et al. 2004, Tanaka et al. 2007, Voskerician et al. 2010). Um eine möglichst objektive Beurteilung der Adhäsionen anhand verschiedener Parameter vornehmen zu können bedienen wir uns, wie in Tab. 5 dargestellt, des bereits in der Literatur evaluierten Vandendael-Scores in einer leicht modifizierten Form (Gruber-Blum et al. 2011, Vandendael et al. 1996).

Tabelle 5: modifizierter Vandendael-Score (mV-Score) zur Adhäsionsbeurteilung

<u>Kriterium</u>	<u>Schweregrad</u>	<u>Score</u>
<b>Ausmaß (8 bzw. 9 mögliche)</b>	keine	<input type="checkbox"/> 0
	1 - 3	<input type="checkbox"/> 1
	4 - 6	<input type="checkbox"/> 2
	> 6	<input type="checkbox"/> 3
<b>Dicke</b>	keine	<input type="checkbox"/> 0
	< 1 mm	<input type="checkbox"/> 1
	1 - 3 mm	<input type="checkbox"/> 2
	> 3 mm	<input type="checkbox"/> 3
<b>Festigkeit</b>	keine	<input type="checkbox"/> 0
	+ (schwach)	<input type="checkbox"/> 1
	++ (mittel)	<input type="checkbox"/> 2
	+++ (fest)	<input type="checkbox"/> 3
<b>Umfang über Netz hinausgehend</b>	an keiner Stelle	<input type="checkbox"/> 0
	+ (an einer Seite)	<input type="checkbox"/> 1
	++ (an zwei Seiten)	<input type="checkbox"/> 2
	+++ (> zwei Seiten)	<input type="checkbox"/> 3
<b><u>Verwachsungsgrad:</u></b>	0: Grad 0 (keinerlei V.)	<b><u>Scoresumme:</u></b>
	1 - 4: Grad I (gering)	
	5 - 8: Grad II (mäßig)	
	9 - 12: Grad III (schwer)	

Der Befund wurde für die linke und rechte Seite gesondert erhoben. Für die Adhäsionsbeurteilung ergeben sich somit nach dem o. g. Score 4 Schweregrade (Tab. 5).



Nach der Beurteilung der oben genannten Kriterien erfolgte die Entnahme der Gewebeproben. Im Hernienmodell wurde das gesamte Rektusscheiden-BNC-Kompartiment herausgeschnitten und im Bauchwandersatzmodell wurde das inkorporierte BNC-Patch mitsamt eines schmalen Saumes der verankernden Bauchwandmuskulatur herausgeschnitten (Abb. 13b). Der anschließende Probenzuschnitt erfolgte gemäß des abgebildeten Schemas (Abb. 14 bzw. 15). Eine kleine Gewebeprobe diente jeweils zur histologischen und immunhistochemischen Untersuchung und wurde in dafür vorgesehene, im Vorfeld beschriftete Histokassetten sortiert und in 4 prozentigem Formalin fixiert. Als Kontrolle für die BrdU-Färbung wurde ein Jejunumsegment von etwa 5 mm entnommen und gesondert aufbereitet.

Für die mechanische Zugprüfung wurde im Hernienmodell der größere, 3x1 cm messende Anteil des Kompartimentes (Abb. 14) und im BWE-Modell ein 2x1 cm Streifen durch die Mitte der entnommenen Probe (Abb. 15) zurecht geschnitten. Die so gewonnenen Teststreifen wurden anschließend umgehend auf Eis gelagert, um Sekundärveränderungen zu minimieren und die Gewebeeigenschaften möglichst valide beurteilen zu können. Zuletzt wurde unter laufender Inhalationsnarkose die Aorta abdominalis durchtrennt und das Tier durch Entbluten getötet.

Die auf Eis gelagerten Proben wurden binnen 24 Stunden der Testung im Institut für Textilforschung und Textile Hochleistungswerkstofftechnik der TU Dresden, Hohe Straße 6, 01069 Dresden zugeführt.

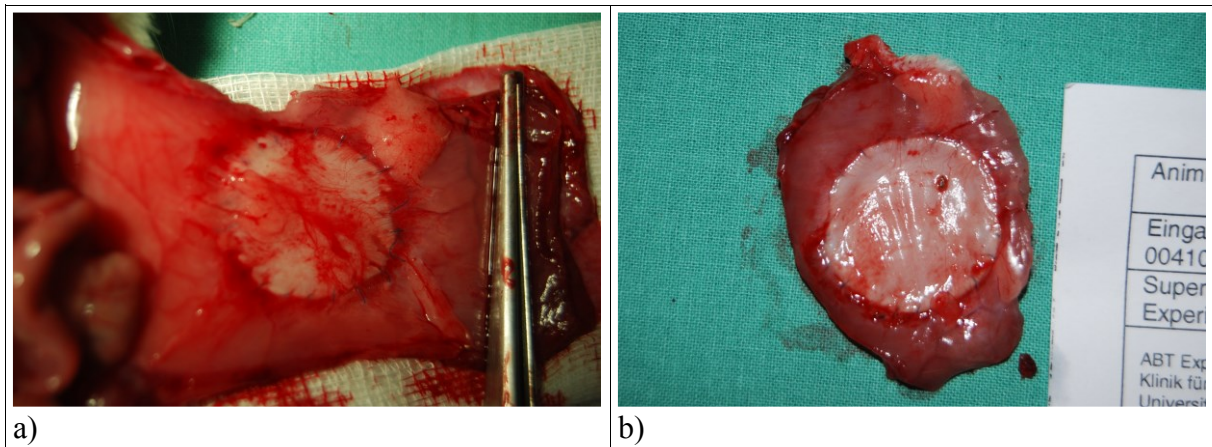


Abbildung 13: a) Beurteilung der Gewebeintegration; b) explantiertes BNC-Patch mit dünnem muskulären Randsaum

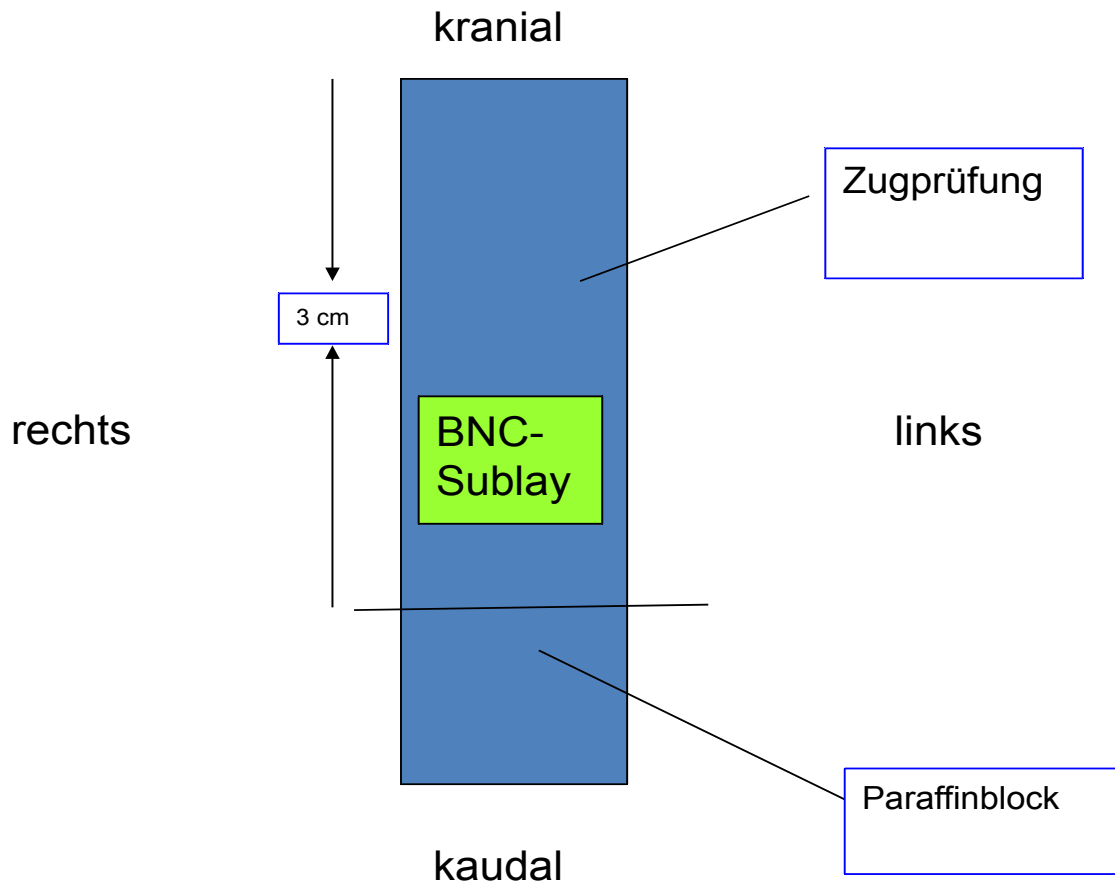


Abbildung 14: Verwendung des BNC-Patches aus dem Hernienmodell

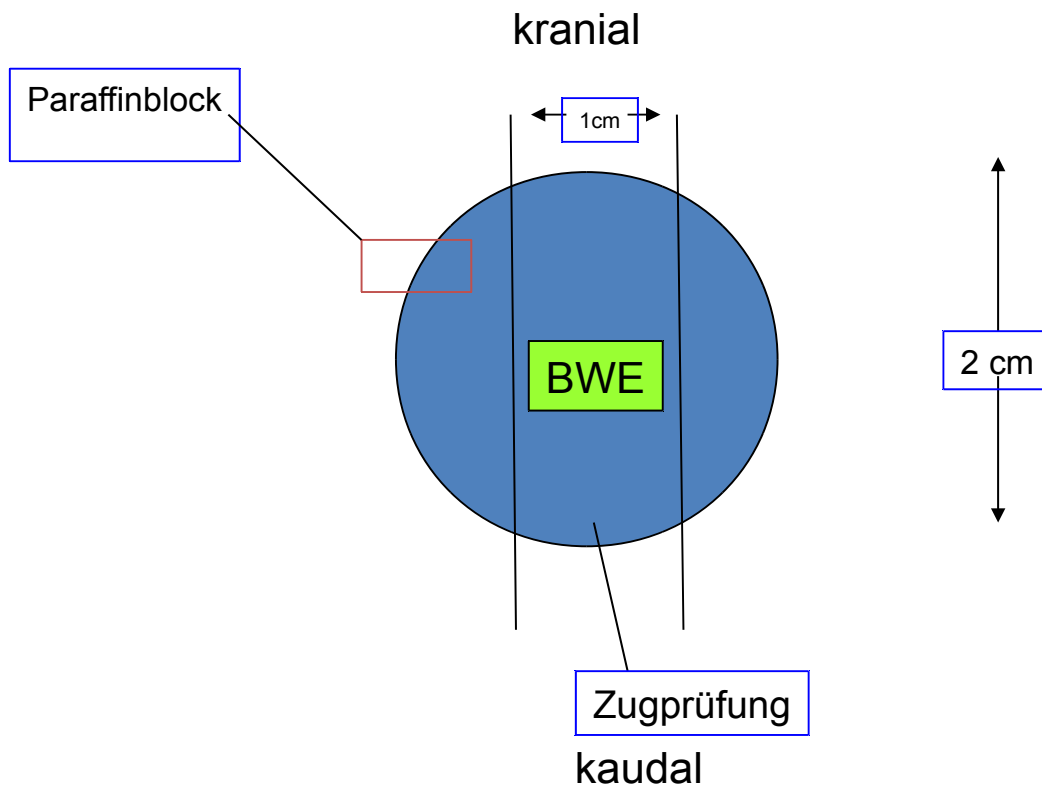


Abbildung 15: Verwendung des BNC-Patches aus dem Bauchwandersatzmodell

### 5. Materialschrumpfung

Da im Gegensatz zu konventionellen Hernienimplantaten für BNC bisher keine diesbezüglichen Daten existieren, wurde die Materialschrumpfung mit Hilfe einer Schieblehre gemessen. Dabei wurde die Länge des BNC-Streifens im Hernienversuch, bzw. der Längs- und Querdurchmesser des BNC-Patches im BWE-Versuch gemessen.

#### 3.3.6 Mechanische Testung

Die mechanische Stabilität des Materials „BNC“ wurde nativ und nach Explantation mit einer Zugprüfmaschine gemessen. Diese Testungen wurden mit freundlicher Unterstützung des Institutes für Textilmaschinen und Textile Hochleistungswerkstofftechnik (Hohe Straße 6, 01069 Dresden) realisiert. Erfasst wurden  $F_{\max}$  (N) als Maß für die Reißfestigkeit und die Längendifferenz  $dL$  (mm) als Maßstab für die Dehnbarkeit.

Zunächst wurde die Zugfestigkeit nativer BNC-Vliese in den beiden Dicken ( $\sim 1,0 - 1,5$  mm und  $\sim 1,5 - 2,0$  mm) getestet, um diese in der Folge als Vergleichswert verwenden zu können. Die durch Feinzuschnitt präparierten (Kapitel 3.3.5, Abb. 14 + 15), seit der Gewebeentnahme bei Versuchsende auf Eis gelagerten Proben wurden binnen 24 Stunden gekühlt nach Dresden transportiert. Die mechanische Testung erfolgte mit der Zugprüfmaschine Zmart.Pro (Abb. 16) der Firma Zwick/Roell (technische Daten: Zmart.Pro/ Messkopf 10 kN/ 8354/ Feilenhieb 60 x 50 mm/ LE 5 mm, Zwick GmbH&Co. KG, Ulm/Germany). Dafür wurde jede 3x1 bzw. 2x1 cm messende Probe längs jeweils am kranialen und kaudalen Pol unter Zuhilfenahme eines Drehmomentschlüssels mit 8 Nm in die Spannbacken des Gerätes eingeklemmt. Bei den Sublay-Proben wurde hierbei das gesamte Kompartiment gemessen und somit ein  $\alpha$ -Fehler in Kauf genommen um eine Verfälschung durch die Präparation zu vermeiden. Der Abstand der Einspannbacken wurde auf 5 mm festgelegt, sodass jedes Gewebestück am oberen und unteren Ende 7,5 mm eingezwängt war. Auf diese Weise sollte verhindert werden, dass die Proben durch die immer stärker werdende Zugkraft der Maschine direkt an den Spannbacken ausreißen. Um eine größtmögliche Standardisierung der Startfixierung zu gewährleisten, wurde anschließend eine Vorkraft von 0,5 N angelegt. Nachfolgend wurde mit der eigentlichen Messung begonnen. Dabei entfernten sich die Einspannbacken mit einer Geschwindigkeit von 10 mm/min voneinander, während die Zmart.Pro Software die Dehnung des Gewebes (in mm) gegen die dafür notwendige Kraft (in N) auftrug. Bei einer individuell unterschiedlichen Kraft  $F_{\max}$  ließ

der Widerstand des Gewebes plötzlich nach und der Reißpunkt war erreicht. Daraufhin reduzierte die Zugprüfmaschine die angelegte Kraft langsam bis auf 0 N und die Messung wurde beendet. Die Gewinnung und Analyse der Rohdaten erfolgte mit der Herstellersoftware.

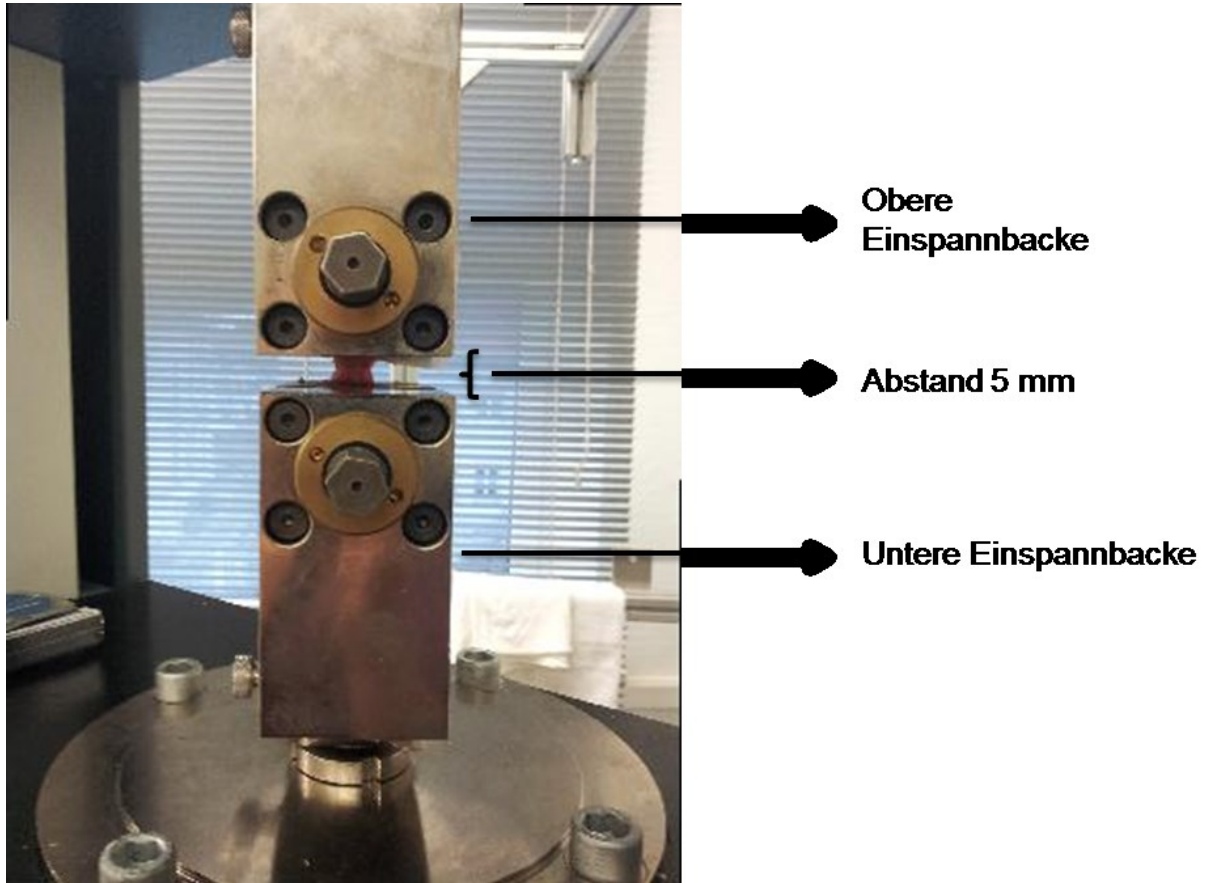


Abbildung 16: Aufbau der Zugprüfmaschine Zmart.Pro

### 3.3.7 Histologische Analysen

Wesentlicher Gegenstand der histologischen Untersuchung war das Einwachsverhalten und die Interaktion des Materials in bzw. mit dem lebenden Organismus.

Die Gewebeproben wurden hierfür zunächst für mehr als 24 Stunden in 4,5 %-igem Formalin fixiert und anschließend nach allgemeinen Standardmethoden in Paraffin eingebettet. Mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms erfolgte die Herstellung der 4  $\mu\text{m}$  dünnen Schnitte. Die Beurteilung der Schnitte erfolgte mit dem Hamamatsu Slide Scanner (Fa. Hamamatsu).



*Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE)*

Die HE-Färbung diene vor allem der deskriptiven Darstellung und sollte veranschaulichen, wie das Material inkorporiert wurde. Als quasi Standardfärbung findet sie in den meisten experimentellen Modellen der Hernienchirurgie Verwendung.

Für die HE-Färbung wurden die Paraffinschnitte zunächst entparaffiniert. Hierbei wurde das Paraffin mit Xylol aus den Präparaten gelöst. Anschließend wurden die Präparate in einer absteigenden Alkoholreihe (100 %, 96 %, 70 % und 50 % Ethanol) über einen Zeitraum von fünf Minuten rehydriert und daraufhin in destilliertem Wasser gespült.

Die Schnittpräparate wurden anschließend 7 min in Hämatoxylin inkubiert und 15 min unter fließendem Leitungswasser zur Stabilisierung der Farbe gebläut. Danach erfolgte die Inkubation der Präparate über 30 Sekunden in einer Eosinlösung (Eosin-Stammlösung 1:4 mit 80-prozentigem Ethanol verdünnt und Zugabe von Eisessig). Die Eosin-Reaktion wurde durch zweimaliges kurzes Spülen der Schnitte in 96-prozentigem Isopropanol gestoppt. Mittels einer aufsteigenden Isopropanolreihe wurden die Schnittpräparate erneut dehydriert, zweimal 5 min in HistoClear® inkubiert und in Histomount® eingedeckt.

*Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS, PAS-Reaktion, Periodic acid-Schiff reaction)*

Die PAS-Reaktion führt zu einer starken rot-violetten Anfärbung von verschiedenen kohlenhydrathaltigen Komponenten (Glycoproteine, Glykolipide, Glykogen u. a.). Sie eignet sich damit u. a. zum Nachweis von Kollagen und Bindegewebsfasern. In der vorliegenden Studie diene sie insbesondere dem Nachweis bzw. Ausschluss von Pilzbestandteilen.

Bei der Reaktion kommt es durch die Perjodsäure zur Oxidation von Glycolgruppen zu Aldehydgruppen. Das Schiff'sche Reagenz enthält farblose fuchsinschwefelige Säure, die an die Aldehydgruppen bindet und so zu einem molekularen Umbau führt und die rot-violette Färbung hervorruft. Im nachfolgenden Schritt wird überschüssige fuchsinschwefelige Säure durch die Sulfitspülung entfernt und die Farbe stabilisiert. Um die Kerne blau zu färben und damit den Präparaten mehr Kontrast zu verleihen, wird Hämalaun verwendet.

*Elastica-van-Gieson-Färbung (EvG)*

Mithilfe der EvG- Färbung lassen sich insbesondere elastische Fasern darstellen. In den vorliegenden Analysen wurde die Umgebungsreaktion um das implantierte Material (histiozytäre Riesenzellen, Narbengewebe) genauer untersucht und die Dicke des histiozytären Randsaumes in µm gemessen. Diese Messung erfolgte, sofern im Schnitt getroffen, jeweils an der zur Muskulatur und an der zum Peritoneum gelegenen Seite an je fünf repräsentativen Stellen. Außerdem wurden zusätzlich an mechanisch besonders beanspruchten Stellen, wie etwa den Enden des BNC-Patches, zusätzliche Messungen durchgeführt. Aus den gemessenen Dicken wurde für jedes Präparat das arithmetische Mittel errechnet und diese Werte bezüglich Unterschieden zwischen Muskulatur und Peritoneum bzw. unterschiedlicher mechanischer Belastung ausgewertet.

Um die Messungen zu objektivieren und eine gewisse Standardisierung zu gewährleisten, wurde je eine Messung an der Stelle der geringsten Umgebungsreaktion und eine am Ort der stärksten Umgebungsreaktion durchgeführt. Die übrigen drei Messungen wurden an Stellen zwischen den beiden Extremen vorgenommen.

*Bromdesoxyuridin-Färbung (BrdU)*

BrdU ist ein chemisches Analogon des Nukleosids Thymin und wird während der S-Phase des Zellzyklus in die DNS proliferierender Zellen integriert. Durch seine kurze Bioverfügbarkeit wird BrdU nur in die DNS der Zellen eingebaut, die sich im Moment der Applikation in der S-Phase befinden. Mittels spezifischer Antikörper kann BrdU immunhistochemisch im Zellkern nachgewiesen werden. So lässt sich retrospektiv eine Aussage über die Teilungsaktivität bestimmter Zellen treffen (Kuhn et al. 1996, Nowakowski et al. 1989).

2-Bromo-5-desoxyuridin (Firma: Sigma, NR. B 5002-1G) wurde in Pulverform bei -20 °C gelagert und am Morgen des Versuchsendes frisch in 0,9 % NaCl-Lösung gelöst. Gewichtsadaptiert wurde nach einem festgesetzten Schema (Tabelle 6) das korrekte Injektionsvolumen (50 mg/kg Körpergewicht) für jedes Tier bestimmt, auf 2 ml NaCl aufgezo- gen und für 10 Minuten in einer Tischzentrifuge durchgeschüttelt. Jeweils exakt eine Stunde vor der Tötung des Tieres wurde die BrdU-Lösung intravenös über die Penisvene

injiziert (Kapitel 3.3.5, Abb. 9).

Mithilfe der BrdU-Färbung wurde das Proliferationsausmaß bestimmt und somit auf Zeichen einer noch aktiven Entzündung bzw. einer noch aktiven Vernarbung untersucht. Hierzu wurden die BrdU-positiven Zellen auf einer Fläche von je 0,3 mm<sup>2</sup> gezählt. Die Flächen wurden jeweils an den beiden Patch-Enden und an repräsentativen Stellen in der Patch-Mitte determiniert.

Als Nachweis, dass die Injektion des BrdU und die entsprechende Färbung erfolgreich war, wurde bei jedem Tier ein kleiner Teil des Dünndarms angefärbt, der stets proliferierende Zellen hat.

*Tabelle 6: Schema zur Berechnung der BrdU-Menge*

<b>Körpergewicht</b>	<b>Dosis *</b>
200g – 250g	12,5 mg
250g – 300g	15 mg
300g - 350g	17,5 mg
350g – 400g	20 mg
400g – 450g	22,5 mg

$$* 250g \times 50mg / 1000g = 12,5 mg$$

#### *Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-(ASDCL)-Färbung*

Mittels der ASDCL-Färbung lassen sich Granulozyten detektieren. Der Nachweis erfolgt indirekt über die Anfärbung des Granulozytenenzym Choracetat-Esterase. Insbesondere die Neutrophilen stellen sich dabei mit einer kräftigen, leuchtend roten Anfärbung im Zytoplasma dar. Auf diese Weise lassen sich Rückschlüsse auf ein noch aktives Entzündungsgeschehen ziehen.

Zunächst wurden die Schnittpräparate entparaffiniert und für 30 min in einer Veronalacetat-Naphtol-AS-D-Chloracetat-Lösung inkubiert. Anschließend wurden die Schnitte 30 s in Hämatoxylin gegeben, 10 min in warmem Leitungswasser zur Stabilisierung der Farbe gebläut und in Histomount® eingedeckt. Die Auswertung erfolgte durch Auszählen der angefärbten Granulozyten innerhalb definierter Flächen von je 0,2 mm<sup>2</sup> in der Umgebung des BNC-Patches sowie im restlichen Bindegewebe.

Im Anschluss wurden die Granulozytendichte und -frequenz als Hinweis auf eine akute Entzündung statistisch ausgewertet.

### **3.4 Statistik**

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit Hilfe der Software SPSS (Version 20.0 für Windows, IBM Company, USA). Für alle untersuchten Parameter wurden der Median und die Standardabweichung berechnet, da der Median bei kleinen Stichproben unempfindlicher gegenüber Ausreißern ist. Unabhängige Stichproben wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test auf Unterschiede geprüft. Aufgrund der statistisch gesehen kleinen Stichprobe ( $n=10$ ) der Versuchsgruppen ist nicht von einer Normalverteilung auszugehen. Daher wurden abhängige Stichproben mit dem Wilcoxon-Test auf Signifikanzen getestet. Ein  $p$ -Wert  $< 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Versuchs- und Kontrollgruppen

Zwischen den beiden Kompartimenten der BNC-Sublay-Gruppe (linke bzw. rechte Rektusscheide) ließen sich in keinem der nach Explantation untersuchten Parameter signifikante Unterschiede feststellen. Daher werden im Folgenden beide Kompartimente zu einer Gruppe zusammengefasst, um die Anzahl der Stichproben zu erhöhen.

Das in Bezug auf eine Hernienversorgung neue Material „BNC“ wurde hinsichtlich klinischer und mechanischer Parameter sowie der Biokompatibilität zum bisher üblichen, konventionellen Standard einer netzgestützten Hernienversorgung am Beispiel PTFE verglichen.

Die Daten für die PTFE-Netze wurden aus einem begleitenden Versuch unserer Forschungsgruppe mit exakt identischen Versuchs- und Messbedingungen entnommen.

In der BWE-Gruppe verstarb ein Tier zu Beginn der Studie durch einen anästhesiologischen Zwischenfall im Rahmen der Operation. Die Versuchsgruppe war daher auf 9 Tiere reduziert.

### 4.2 Postoperativer Verlauf

#### Aktivitätsscore

Alle Tiere jeder Gruppe waren ab dem zweiten postoperativen Tag auf dem höchsten Level des Aktivitätsscores und blieben fortan auf diesem.

#### Serombildung

Bei der Wund- und Narbenbegutachtung zeigten sich alle Wunden weitgehend unauffällig. In jeder Gruppe gab es allerdings vereinzelt Serombildungen, die sich ausnahmslos innerhalb weniger Tage zurückbildeten.

Bei der Hernienstudie hatten 30 % der Tiere der BNC-Gruppe für durchschnittlich 5,7 Tage eine am ehesten durch ein Serom verursachte Verdickung im Bereich der Narbe (Abb. 17). Im Vergleich dazu war dies in 25 % der Fälle bei den Tieren der PTFE-Gruppe für durchschnittlich 6,2 Tage der Fall.

In der Gruppe, bei der BNC als Material zum Bauchwandersatz verwendet wurde, zeigten 33,3 % der Tiere für durchschnittlich 4,3 Tage Zeichen einer Serombildung.

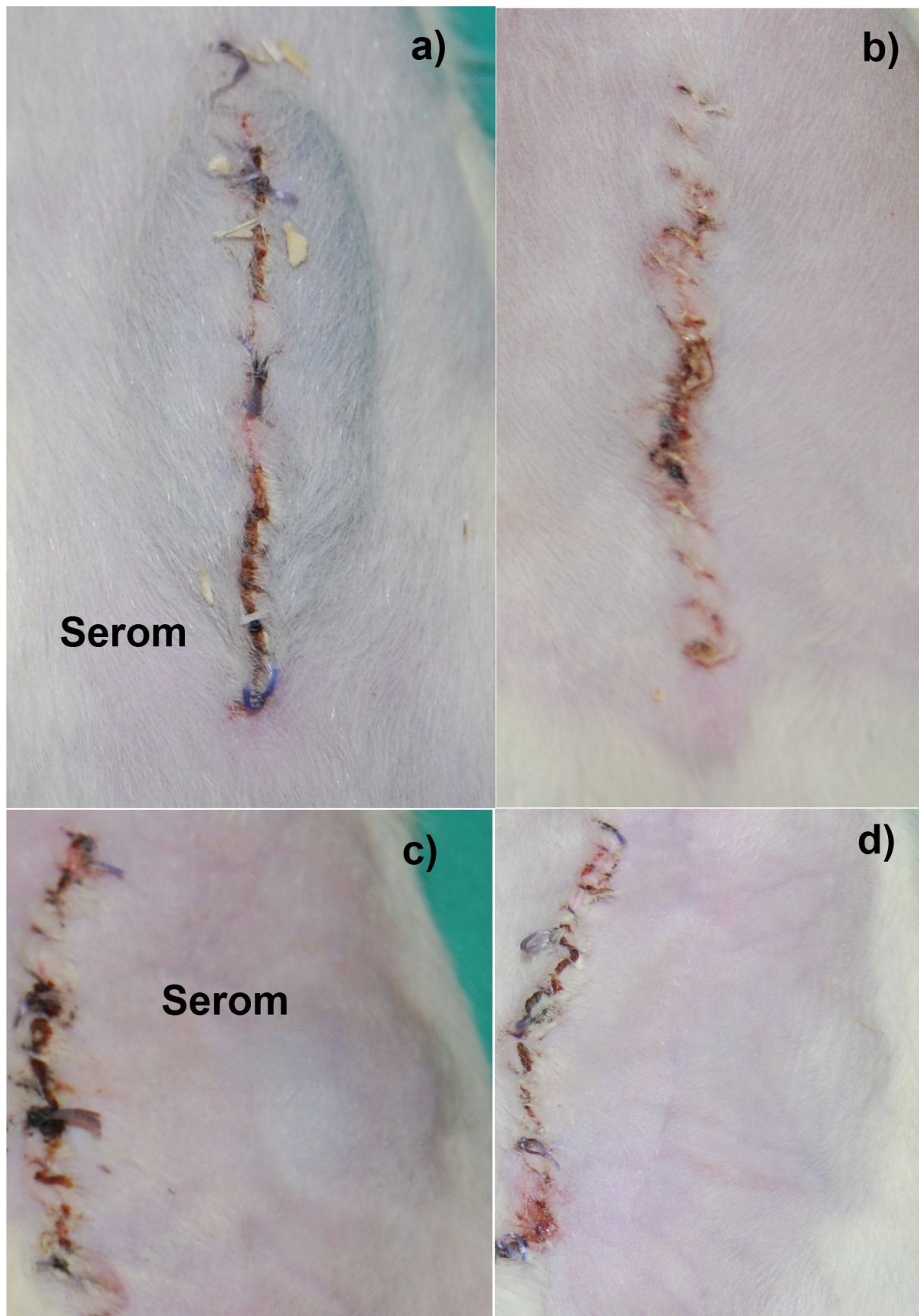


Abbildung 17: a) Tier aus BNC-sublay Gruppe mit Serom im Bereich der Narbe am 5. postoperativen Tag, b) Tier aus BNC-sublay Gruppe ohne Serombildung am 5. postop. Tag, c) Tier aus BWE Gruppe mit Serom im Bereich des implantierten BNC-Patches am 6. postop. Tag, d) Tier aus BWE Gruppe ohne Serobildung am 6. Postop. Tag

### Gewichtsverlauf

Allgemein war bei allen Tieren im direkten Anschluss an den operativen Eingriff eine Gewichtsabnahme zu beobachten. Diese hatte bei den Hernienversuchen jeweils am dritten postoperativen Tag und beim Bauchwandersatz am vierten postoperativen Tag ihr Maximum erreicht. Im Anschluss daran setzte eine rasche Erholung und eine stetige Gewichtszunahme bis hin zum Versuchsende ein (Abb. 18-20).

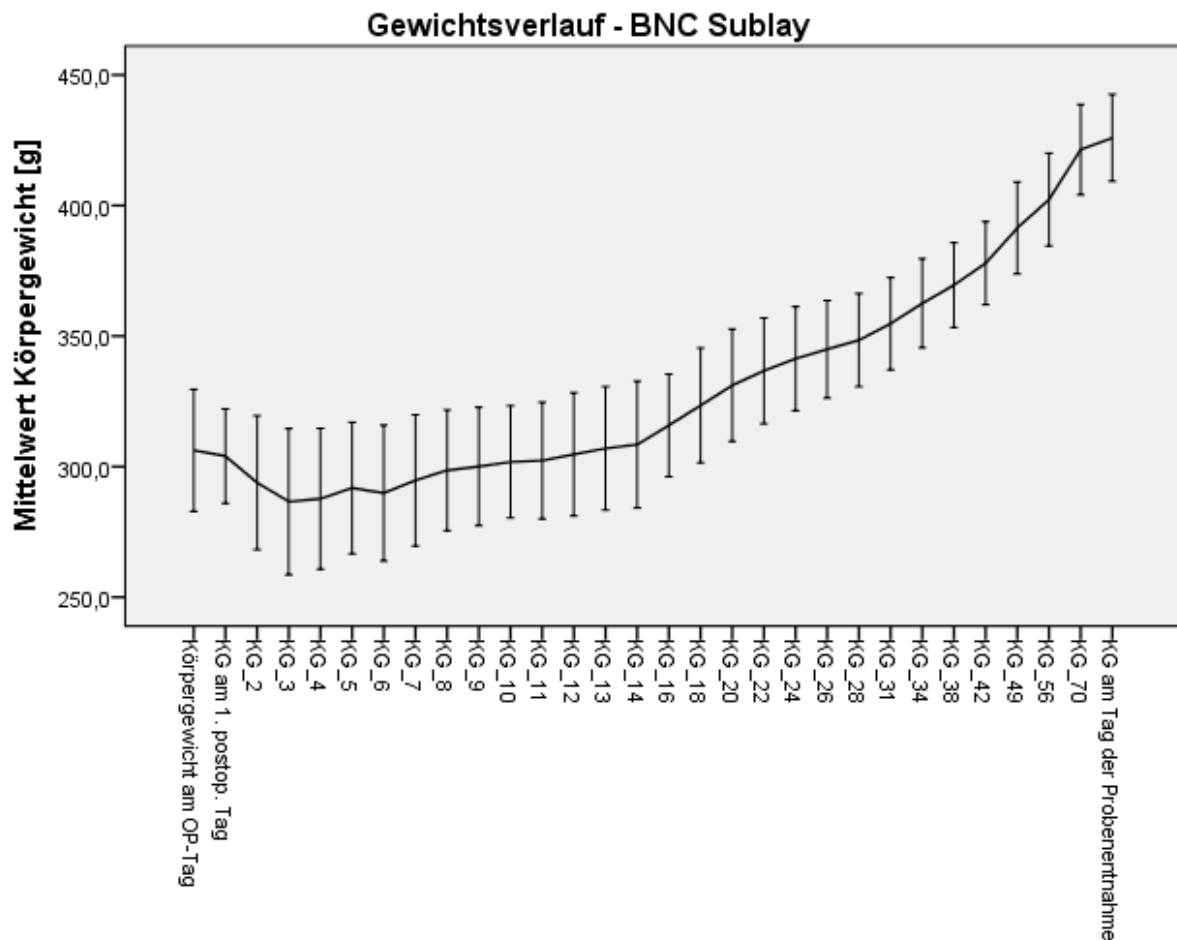


Abbildung 18: durchschnittlicher Gewichtsverlauf mit Fehlerbalken und Standardabweichung der BNC-Sublay Tiere über den gesamten Versuchszeitraum

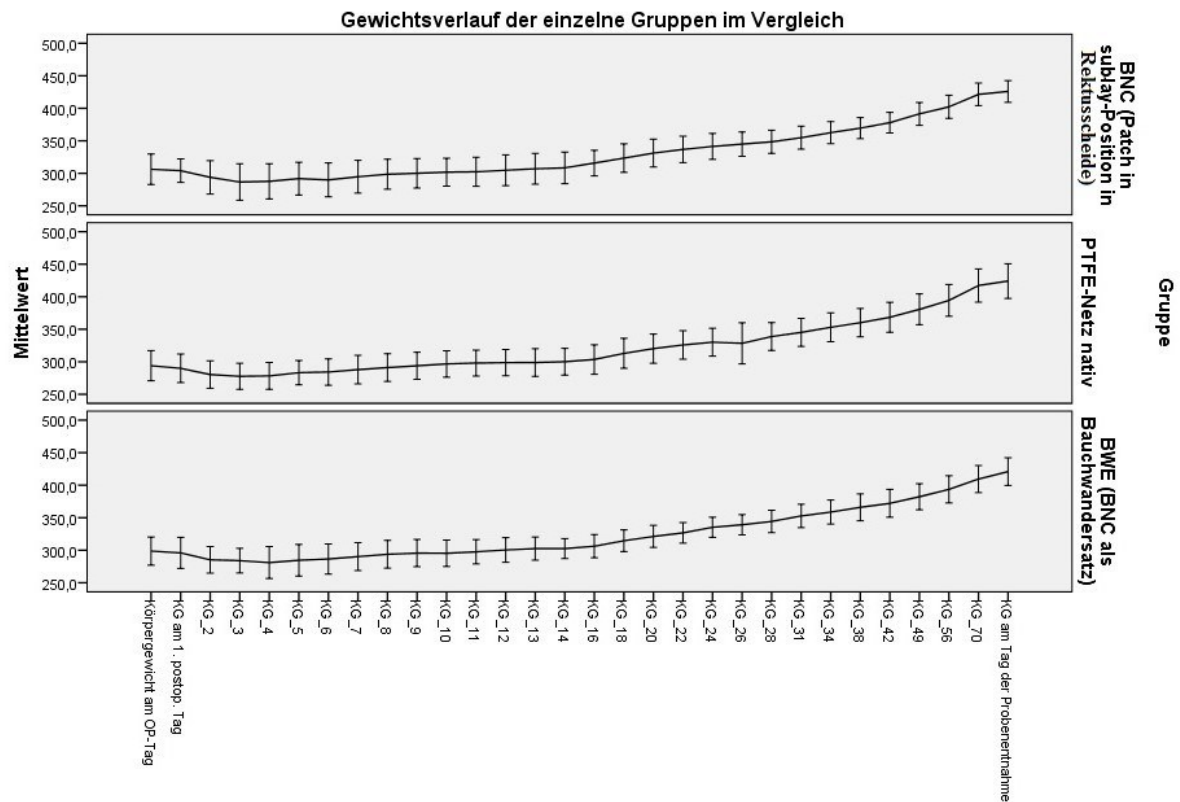


Abbildung 19: durchschnittlicher Gewichtsverlauf mit Fehlerbalken und Standardabweichung über den gesamten Versuchszeitraum aller Tiere der drei Versuchsgruppen im Vergleich

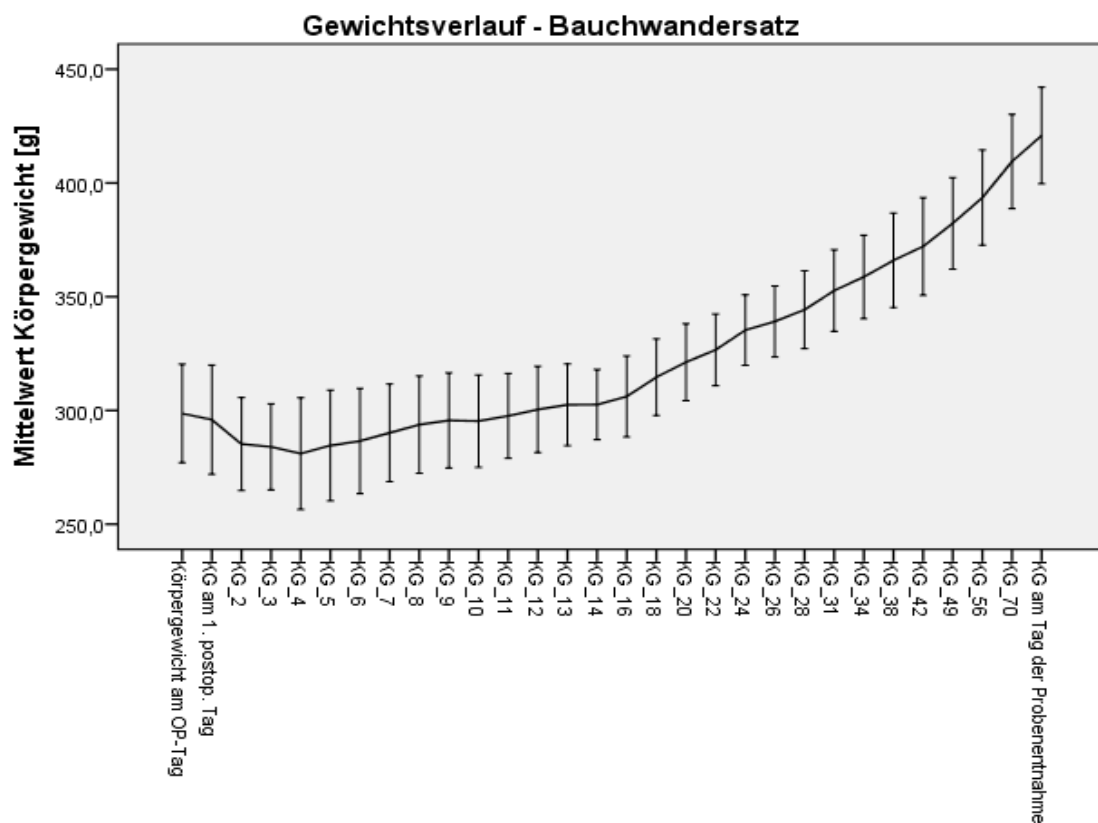


Abbildung 20: durchschnittlicher Gewichtsverlauf mit Fehlerbalken und Standardabweichung der BWE-Tiere über den gesamten Versuchszeitraum



### 4.3 Ultraschall

Um die Messwerte mittels Ultraschall an den einzelnen Terminen miteinander vergleichen zu können, wurde zunächst mithilfe des Friedmann-Tests analysiert, ob signifikante Unterschiede bestehen.

Da dies mit einem Signifikanzniveau von  $p = 0,015$  zutreffend war, war eine Analyse mit dem Wilcoxon-Test zulässig.

Im Vergleich der gemessenen Abstände zwischen Haut und Material („Haut-Material-Abstand“) gab es in der BNC-sublay- und in der BWE-Gruppe jeweils signifikante Unterschiede zwischen den Terminen 1 und 2 ( $p=0.001$ ), sowie zwischen 2 und 3 ( $p=0,008$ ), nicht aber zwischen den Terminen 1 und 3. Diese Unterschiede stellten sich in Form einer Größenabnahme von Termin 1 ( $0,51 \text{ cm} \pm 0,12 \text{ cm}$ ) zu Termin 2 ( $0,41 \text{ cm} \pm 0,09 \text{ cm}$ ) und einer anschließenden Größenzunahme von Termin 2 auf 3 ( $0,51 \text{ cm} \pm 0,07 \text{ cm}$ ) dar (Tab. 7). Zwischen den Terminen 1 und 3 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Die gemessene Dicke am Termin 1 entsprach, nach der zwischenzeitlichen Größenabnahme am Termin 2, wieder annähernd der Dicke am Termin 3 (Abb. 21).

*Tabelle 7: Median der Haut-Material-Abstände der einzelnen Gruppen im zeitlichen Verlauf*

Zeitpunkt Ultraschall	Dicke BNC-Sublay (cm)	Dicke PTFE (cm)	Dicke BNC-BWE (cm)
US1	0,53	0,50	0,58
US2	0,40	0,48	0,46
US3	0,51	0,44	0,56

Im Vergleich der BNC-Sublay-Gruppe mit der PTFE-Gruppe mittels des Mann-Whitney-Tests gab es lediglich in der Differenz vom zweiten auf den dritten Messtermin einen signifikanten Unterschied ( $p=0,004$ ). Dieser ist in Anbetracht der unterschiedlichen Materialtextur naturgemäß eingeschränkt. In der PTFE-Gruppe stellte sich der typische Verlauf der Dicke mit Abnahme von 1 auf 2 nicht so eindrucksvoll dar. Auch die folgende Zunahme von 2 auf 3 zurück auf das Niveau des ersten Termins blieb aus (Abb. 22). Bei dem Vergleich der Differenzen

zwischen Termin 1 und 2 bzw. 1 und 3, gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen.

Am auffälligsten ist insgesamt, dass der Unterschied der Dickenabnahme bei BNC zwischen den ersten beiden Ultraschalluntersuchungen im Vergleich zum konventionellen Sublay stärker ausgeprägt ist. Außerdem steigt bei BNC die Dicke zum Versuchsende hin (US3) nicht nur wieder an, sie pendelt sich sogar um die Ausgangswerte (US1) wieder ein (Abb. 22).

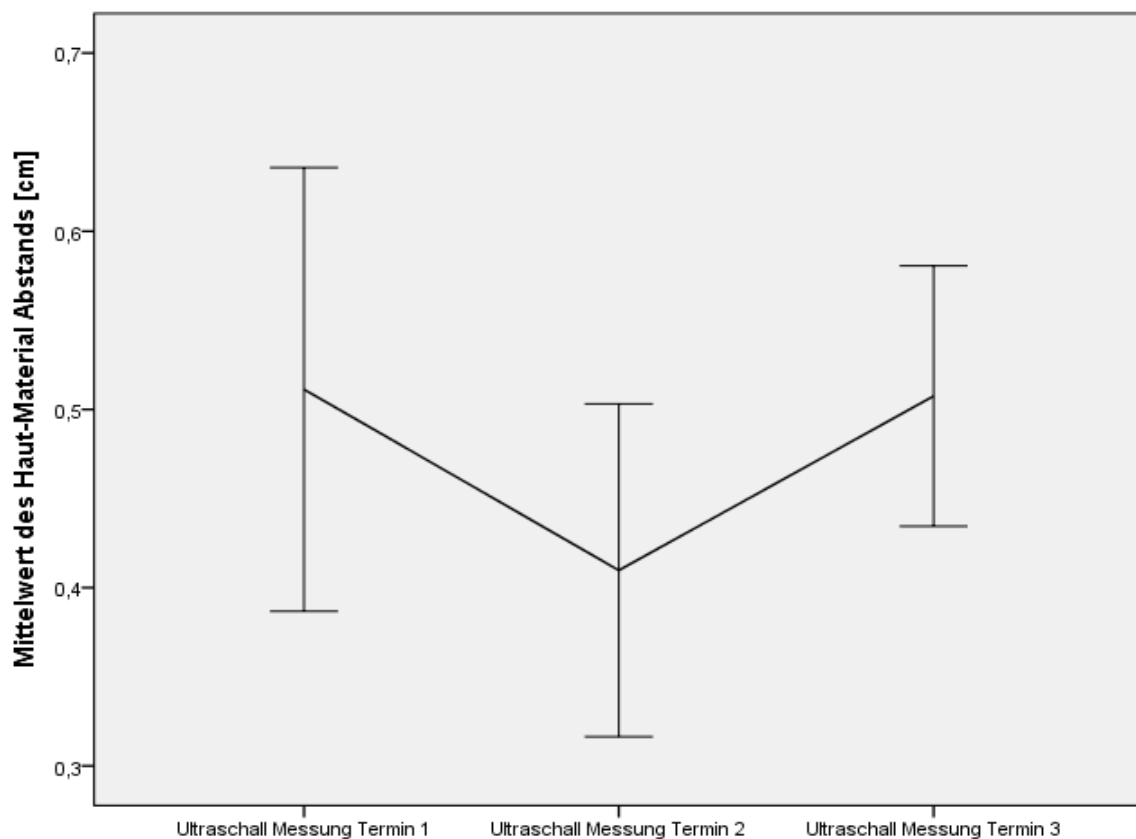


Abbildung 21: Mittelwert und Standardabweichung der Haut-Material-Abstände zu den unterschiedlichen Zeitpunkten der Ultraschalluntersuchung der BNC-Sublay Gruppe

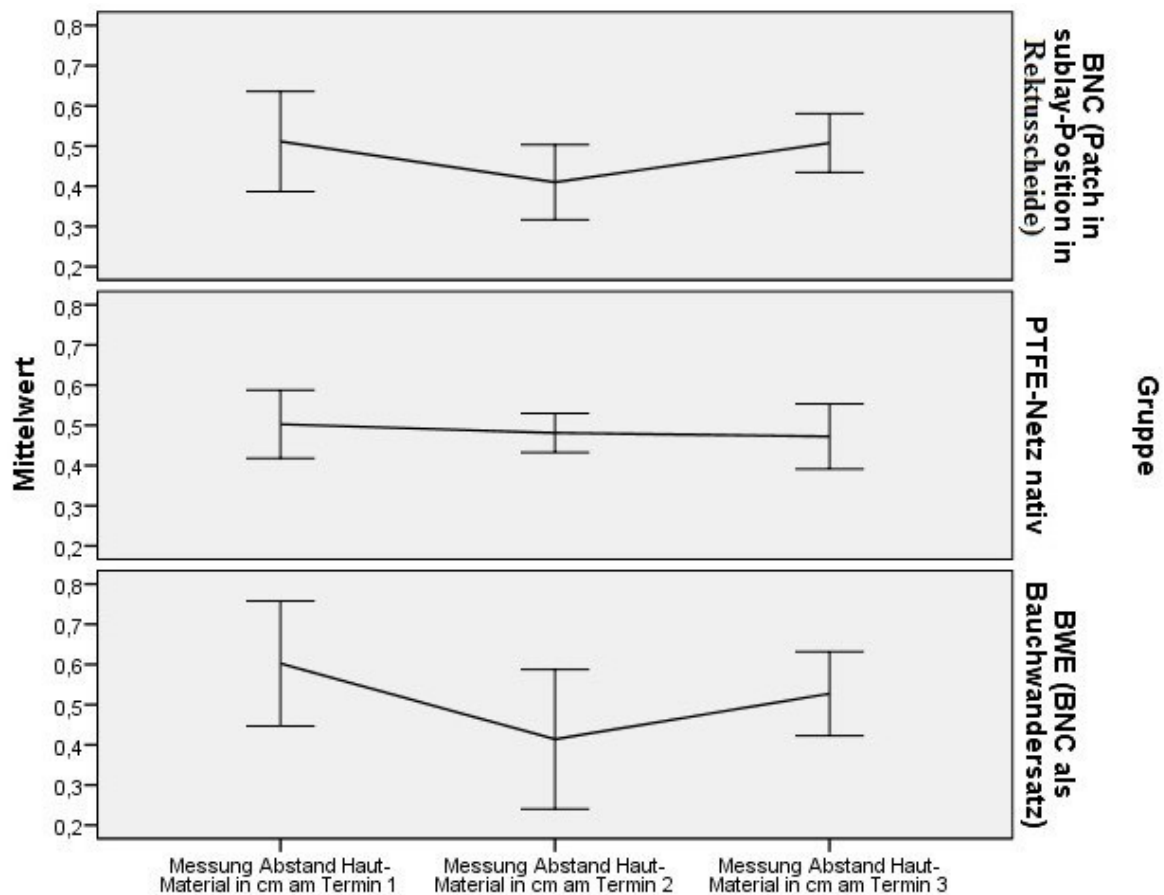


Abbildung 22: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Haut-Material Abstände zu den unterschiedlichen Ultraschalluntersuchungen aller Versuchsgruppe im Vergleich

#### 4.4 Entnahmeprotokoll

##### 4.4.1 Makroskopische Gewebeintegration

Bei der makroskopischen Gewebeintegration ließen sich zum Zeitpunkt des Versuchsendes keine Unterschiede auffinden. Bei sämtlichen Tieren einer jeden Gruppe war das Material voll ins Gewebe integriert (A – volle Gewebeintegration).

##### 4.4.2 Lokale Entzündungsreaktion

Zum Versuchsende ließ sich bei keinem Tier in keiner der Gruppen eine nach dem in Kapitel 3.3.5 beschriebenen Score klassifizierte Entzündungsreaktion auffinden.

#### 4.4.3 Serombildung

Die bei einigen Tieren in der postoperativen Beobachtung aufgefallenen Serome waren zum Versuchsende vollständig abgeklungen, sodass der Serom-Score ausschließlich mit „keine“ bewertet wurde.

#### 4.4.4 Adhäsionsbeurteilung (mV-Score) BNC versus PTFE

Bei den Adhäsionen gab es am Versuchsende zwischen dem untersuchten BNC im Vergleich zu standardmäßig verwendeten PTFE-Netzen keinen signifikanten Unterschied. Bei 3/20 Kompartimenten der BNC-Sublay-Gruppe wurde ein Score von 6 erreicht. Bei den übrigen ein Score von 0. In der PTFE-Gruppe wurden bei 4 Kompartimenten Werte zwischen 4 und 5 erreicht (durchschnittlicher Score-Wert: BNC 0,90, PTFE 0,57).

Aufgrund der fehlenden peritonealen Bedeckung zeigte sich bei der BNC-BWE-Gruppe naturgemäß ein sehr viel höherer Score. Der durchschnittliche Score-Wert lag hier bei 6,1 und wies eine große Spannweite auf (0 - 10). In Anbetracht der anatomisch völlig unterschiedlichen Situation ist ein direkter Vergleich mit den anderen Gruppen nicht sinnvoll (Abb. 23).

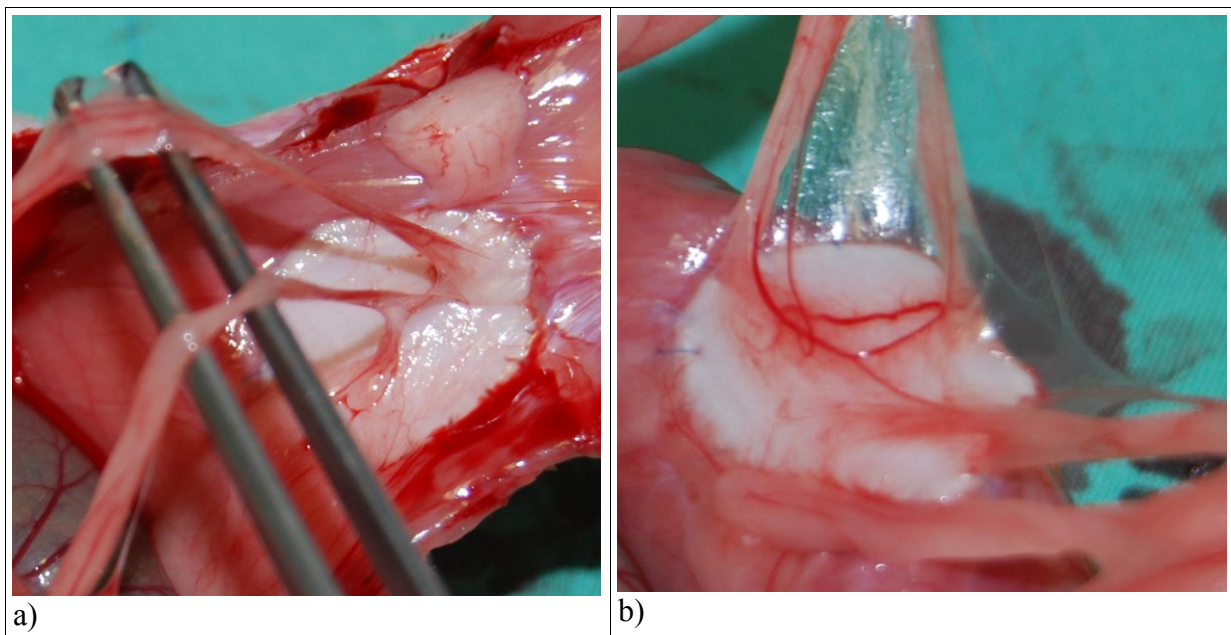


Abbildung 23: BNC BWE: gute Materialinkorporation bei teils flächigen Adhäsionen

#### 4.4.5 Materialschrumpfung

##### BNC als Sublay:

Bei der Implantation von BNC in Sublay-Position zur Hernienversorgung kam es innerhalb der drei postoperativen Monate zu einer durchschnittlichen Materialschrumpfung von  $15,38 \pm 9,72 \%$ . Es gab allerdings große Unterschiede von maximal  $37,9 \%$  Schrumpfung bis minimal  $2,6 \%$ . Der Median lag bei  $11,9 \%$ .

Die Länge des Patches nahm dabei von den implantierten  $4 \text{ cm}$  auf durchschnittlich  $3,49 \text{ cm} \pm 0,27 \text{ cm}$  ab. Der Median lag hier bei  $3,58 \text{ cm}$ .

##### BNC als Bauchwandersatz:

Bei der Explantation von BNC aus dem Bauchwandersatzmodell wurde bei einem anfänglich runden Implantat mit einem Durchmesser von  $2,2 \text{ cm}$  je ein Wert längs und quer in Bezug zur Mittellinie durch die Bauchwand gemessen. Hierbei kam es innerhalb der drei Monate zu einer durchschnittlichen Materialschrumpfung von  $20,9 \pm 5,9 \%$  längs und  $20,1 \pm 3,0 \%$  quer. Der Median lag sowohl längs als auch quer bei  $10,0 \%$ , was einer mittleren Flächenschrumpfung von  $17 \%$  entspricht.

Die Länge des Patches nahm dabei auf durchschnittlich  $1,99 \text{ cm} \pm 0,09 \text{ cm}$  ab. Der Median lag bei  $2,00 \text{ cm}$ . Die quer gemessenen Werte des Patches nahmen auf einen Mittelwert von  $2,00 \text{ cm} \pm 0,05 \text{ cm}$  ab, mit einem Median von  $2,00 \text{ cm}$ .

#### **4.5 Mechanische Zugprüfung**

Die maximale, zum Zerreißen des nativen Materials für das Sublay notwendige Kraft betrug  $5,54 \text{ N} \pm 2,44 \text{ N}$ . Bei dem nativen Material für den BWE lag der Mittelwert bei  $9,36 \text{ N} \pm 1,21 \text{ N}$ . Der Reißkraftunterschied liegt dabei überproportional über dem Dickenunterschied (Dickenunterschied Faktor  $1,4$ ; Reißkraftunterschied Faktor  $1,7$ ). Der Unterschied bei der Betrachtung der Dehnbarkeit liegt mit dem  $2,3$ -fachen Faktor noch wesentlich höher.

Im Vergleich zu den nativen Proben ergaben sich bei den Testungen nach Explantation des Materials im Verbund mit dem Bindegewebs-Kompartiment Mittelwerte von  $12,47 \text{ N} \pm 2,21 \text{ N}$  für das Herniensetting. Beim BWE betrugen die Werte nach 3 Monaten  $7,22 \text{ N} \pm 2,97 \text{ N}$ .

Bei der Untersuchung der Längendifferenz beim Erreichen von  $F_{max}$  ergab sich für die native BNC-Probe (Sublay) ein Mittelwert von  $1,07 \text{ mm} \pm 0,46 \text{ mm}$  und bei der nativen BNC-Probe für den Bauchwandersatz von  $2,42 \text{ mm} \pm 0,46 \text{ mm}$ .

Die Mittelwerte der Längendifferenz, gemessen bei den explantierten Kompartimenten mit BNC, lagen bei  $16,20 \text{ mm} \pm 4,45 \text{ mm}$  für die Sublay-Situation und bei  $7,80 \text{ mm} \pm 4,03 \text{ mm}$  für den Bauchwandersatz (Tab. 8, Abb. 24+25).

Tabelle 8: Vergleich von  $F_{max}$  und  $dL$  nativ und nach Explantation

	BNC (Sublay)		BNC (BWE)	
	nativ	nach Explantation	nativ	nach Explantation
$F_{max}$ (N)	$5,54 \pm 2,44$	$12,47 \pm 2,21$	$9,36 \pm 1,21$	$7,22 \pm 2,97$
$dL$ (mm)	$1,07 \pm 0,46$	$16,20 \pm 4,45$	$2,42 \pm 0,46$	$7,80 \pm 4,03$

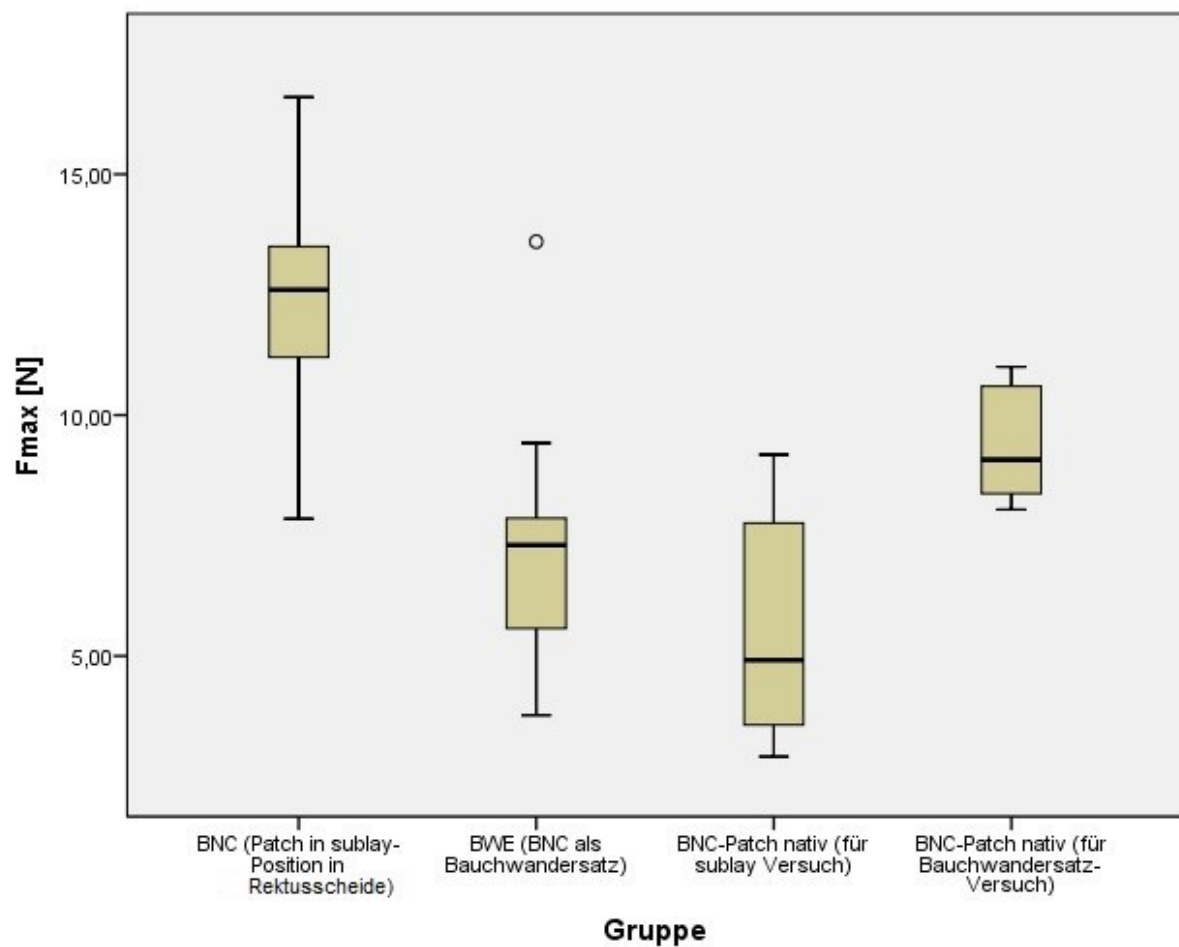


Abbildung 24: Darstellung der Mittelwerte mit Fehlerbalken und Standardabweichung der maximal nötigen Kraft ( $F_{max}$ ), bei der es zu einem Zerreißen des Materials kommt

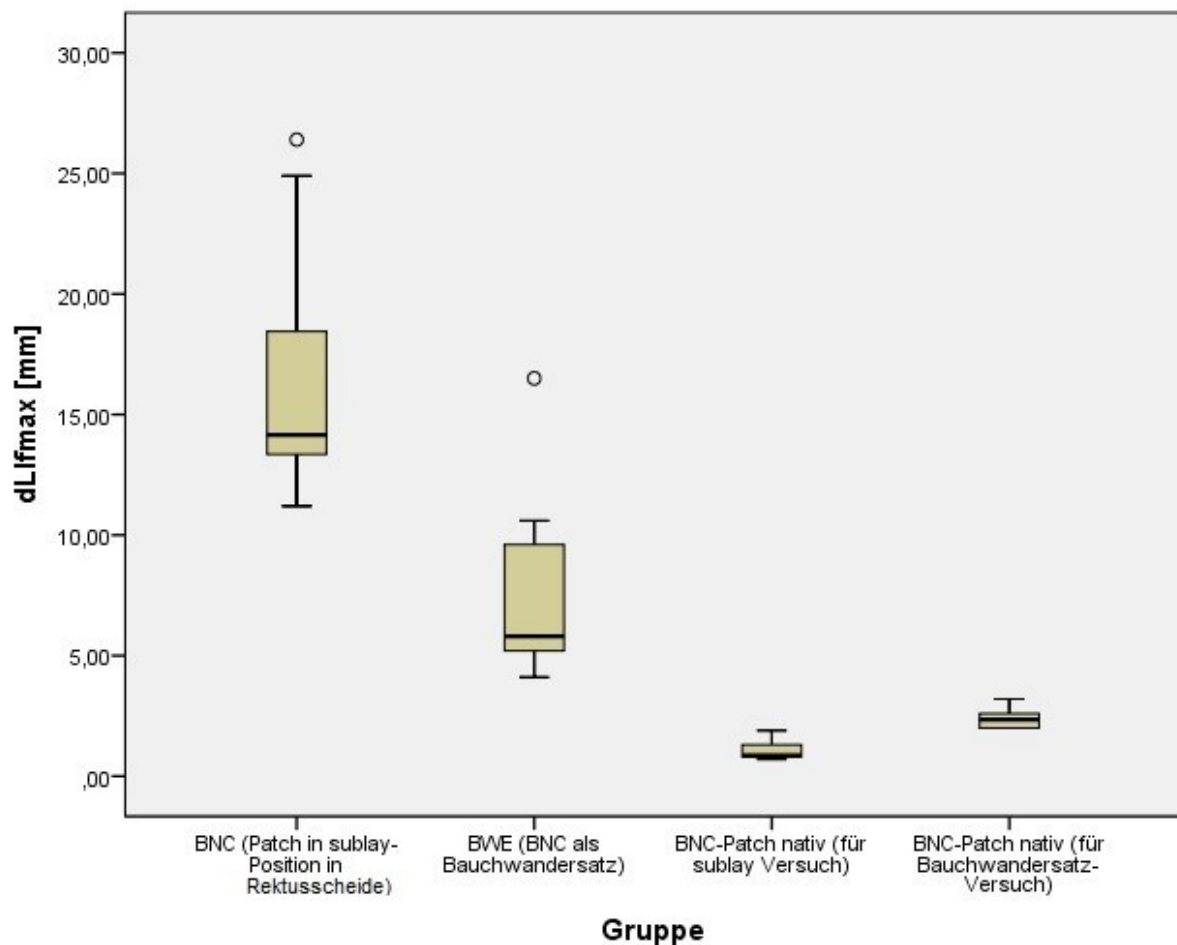


Abbildung 25: Darstellung der Mittelwerte mit Fehlerbalken und Standardabweichung der erfolgten Längenänderung (dL) nach Einwirkung von Fmax im Vergleich der Gruppen

Im BWE-Setting liegt demnach ein Reißkraftverlust von 23 % vor und in der Sublay-Situation eine Zunahme der Werte um durchschnittlich 125 %. Beim Sublay-Modell ist allerdings zu berücksichtigen, dass hier das gesamte Kompartiment, also neben dem BNC auch das übrige Gewebe, mit gemessen wurde. Die Reißkraft des Kompartiments mit BNC liegt mit 12.47 N im unteren Bereich der für konventionelle Netze gemessenen Werte (die Durchschnittswerte beim Sublay mit PTFE bzw. PP aus einer repräsentativen Vergleichsgruppe betrugen zwischen 13.5 N und 19.3 N). Die Dehnbarkeit nimmt in beiden Situationen überproportional zu (Sublay Faktor 15, BWE Faktor 3) und liegt im Vergleich zu den konventionellen Materialien im oberen Wertebereich (BNC Sublay durchschnittlich 16.2 mm vs. 13.95 mm/ 14.25 mm/ 14.9 mm/ 16.2 mm PTFE).

Alle Unterschiede hinsichtlich F max und dL sind signifikant. Im Hernien-Setting (Abb. 26, 27)

ist die maximale Kraft, bei der es zu einem Zerreißen kommt, nach Explantation signifikant größer als in der nativen Messung ( $p < 0,001$ ). Auch die erfolgte Dehnung bei  $F_{\max}$  des explantierten Materials ist signifikant größer als beim nativen Material ( $p < 0,001$ ).

Im Bauchwandersatz-Setting (Abb. 28, 29) ist  $F_{\max}$  nach Explantation signifikant kleiner als in der nativen Messung ( $p = 0,05$ ). Die erfolgte Dehnung bei  $F_{\max}$  des explantierten Materials ist allerdings signifikant größer als beim nativen Material ( $p < 0,001$ ).

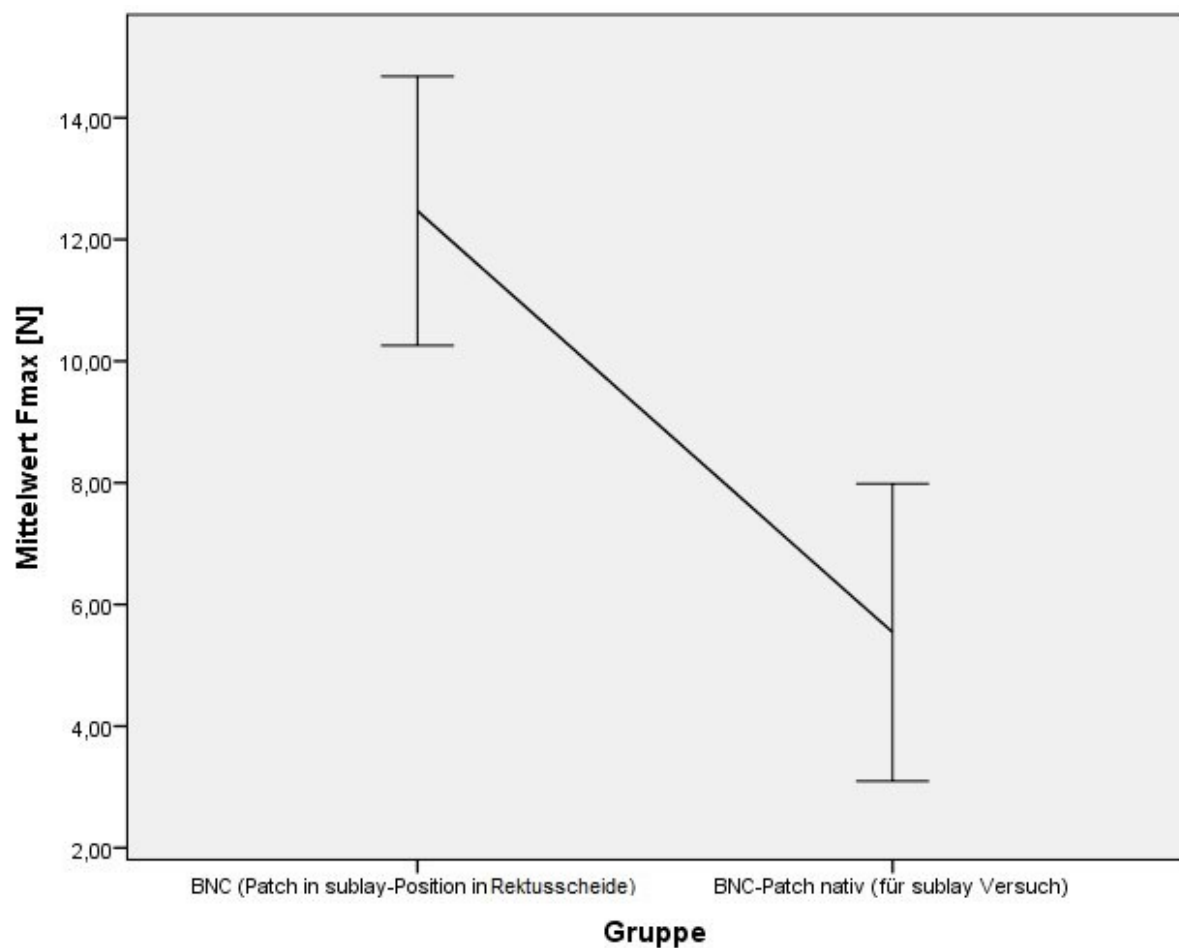


Abbildung 26: Vergleich von Mittelwert und Standardabweichung von  $F_{\max}$  zwischen nativem BNC und explantiertem BNC aus dem Hernienversuch



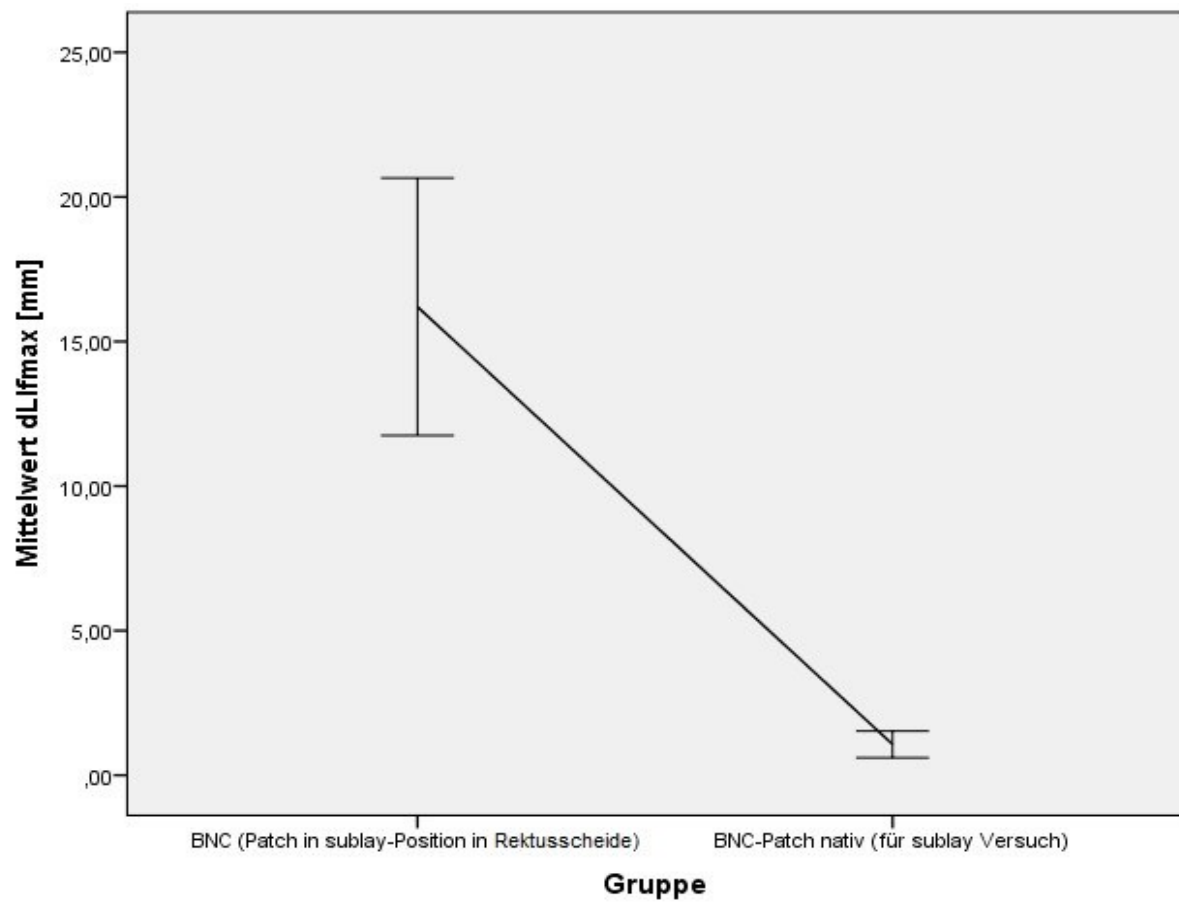


Abbildung 27: Vergleich von Mittelwert und Standardabweichung von  $dL(F_{max})$  zwischen nativem BNC und explantiertem BNC aus dem Hernienversuch

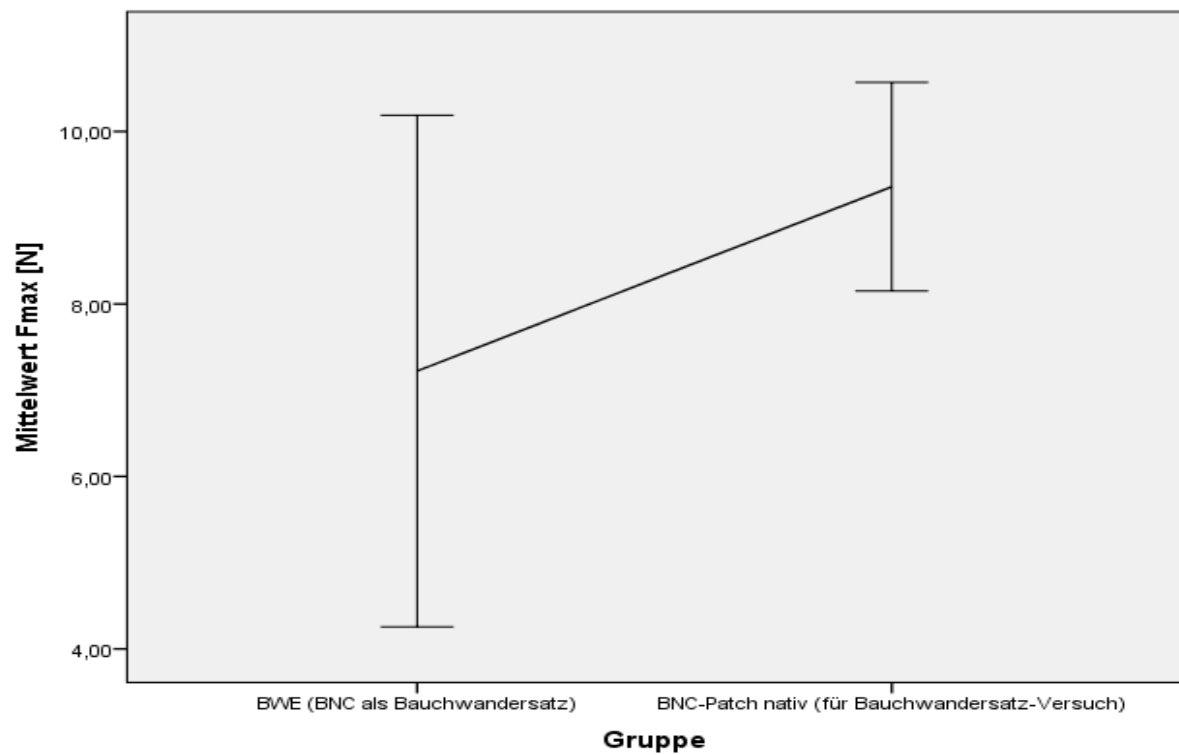


Abbildung 28: Vergleich von Mittelwert und Standardabweichung von  $F_{max}$  zwischen nativem BNC und explantiertem BNC aus dem Bauchwandersatz-Versuch

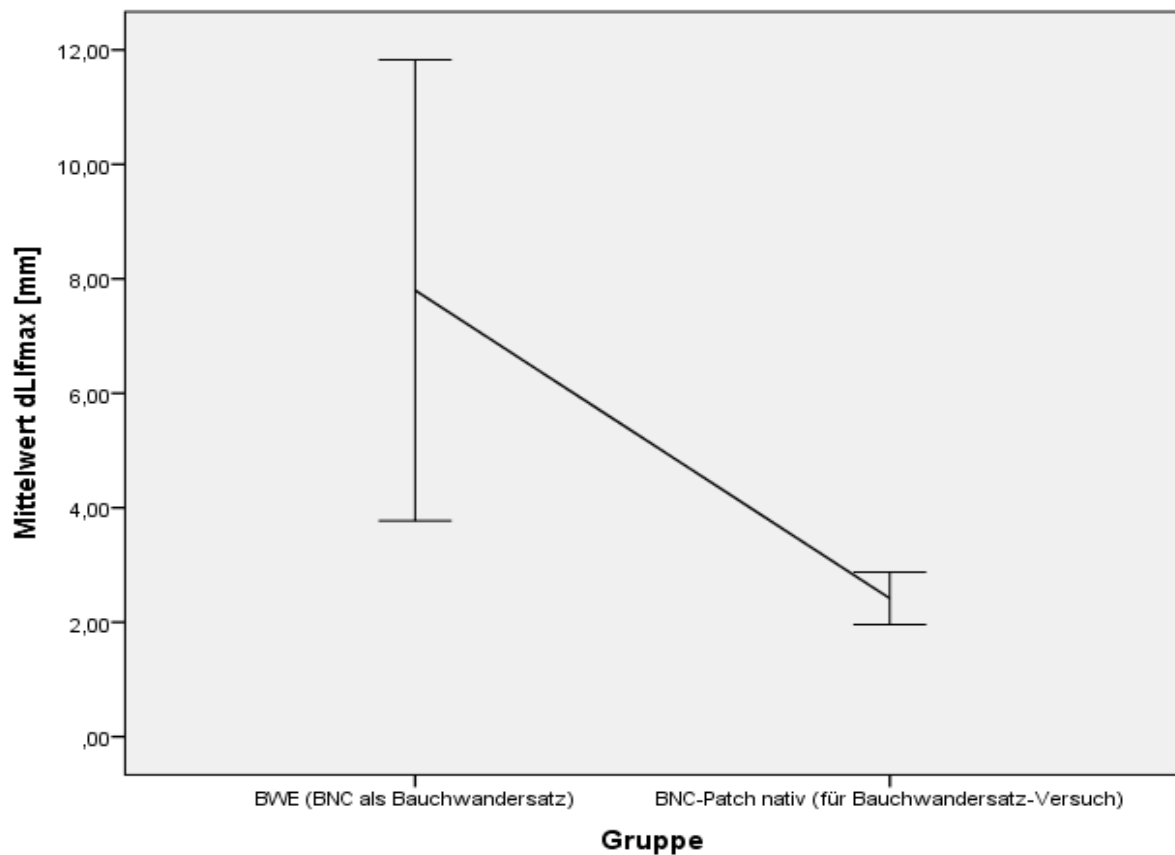


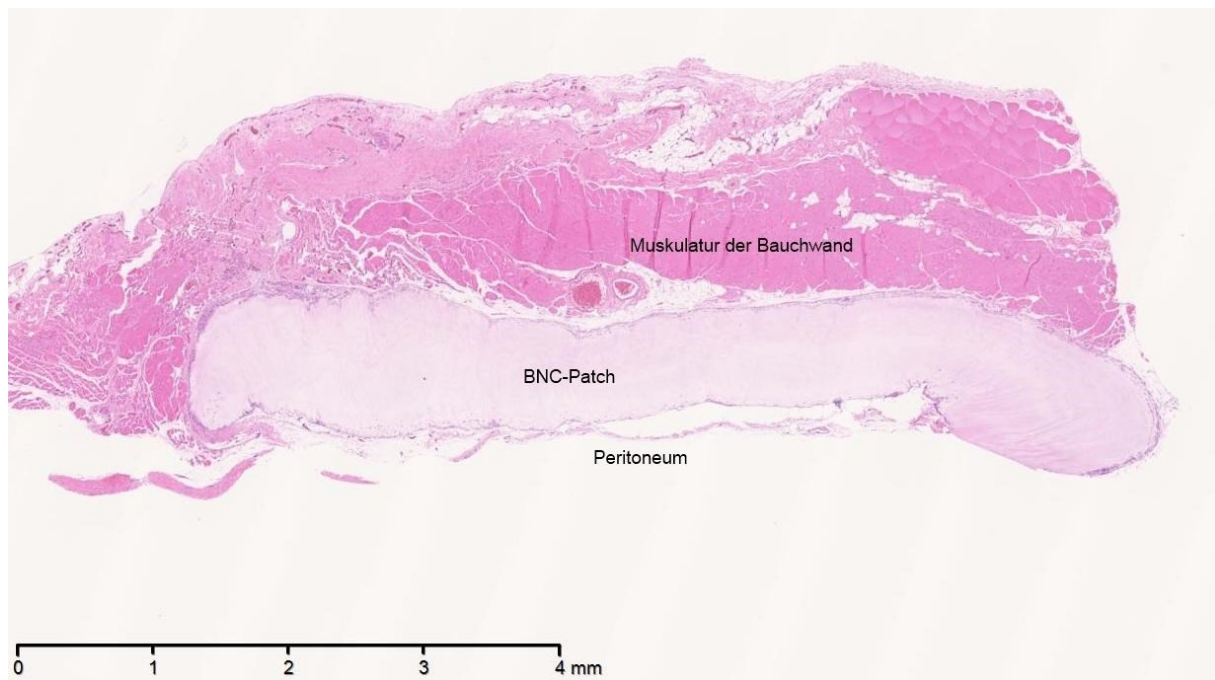
Abbildung 29: Vergleich von Mittelwert und Standardabweichung von  $dL(F_{max})$  zwischen nativem BNC und explantiertem BNC aus dem Bauchwandersatz-Versuch

#### 4.6 Histologische Analysen

##### *Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE)*

Die HE-Färbung diente in erster Linie der morphologischen Beschreibung der durch das Material verursachten Entzündungsreaktion bzw. des Einheilungsverhaltens. Bei den Schnitten aus dem Hernienversuch liegt das BNC dorsal direkt dem hinteren Fasziablatt und dem Peritoneum auf und wird ventral von der Rektusmuskulatur (bzw. kranial/lateral auch vom M. obl. int. abd.) bedeckt (Abb. 30-32). Nur im Randbereich des Patches ist ein Areal mit einer umschriebenen Ansammlung von histiozytären Zellen gelegen (Abb. 31, 32), das in ein bindegewebsreiches Stroma übergeht und so Verbindung zu den umliegenden Strukturen erhält (Abb. 30-32).

Der histiozytäre Randsaum ist im Vergleich zum konventionellen Sublay deutlich weniger ausgeprägt, was nicht zuletzt durch seine geringere Materialoberfläche bedingt ist. Morphologisch wird das Material nicht durchbaut, sondern vielmehr eingeschleitet.



*Abbildung 30: Typische Lage des BNC als Hernienmaterial zwischen der Muskulatur der Bauchwand und dem Peritoneum; HE-Färbung, 50-fache Vergrößerung*

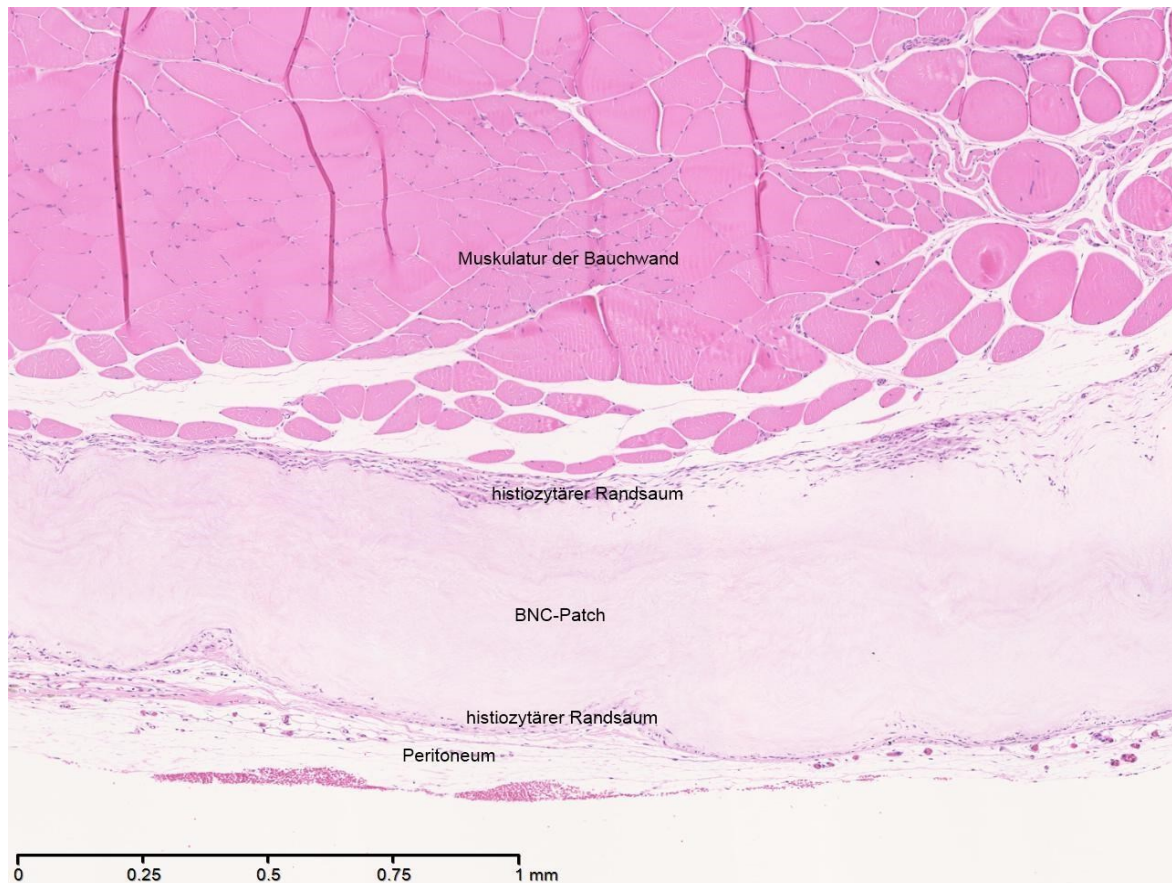


Abbildung 31: Typische Lage des BNC als Hernienmaterial zwischen der Muskulatur der Bauchwand und dem Peritoneum; HE-Färbung, 100-fache Vergrößerung

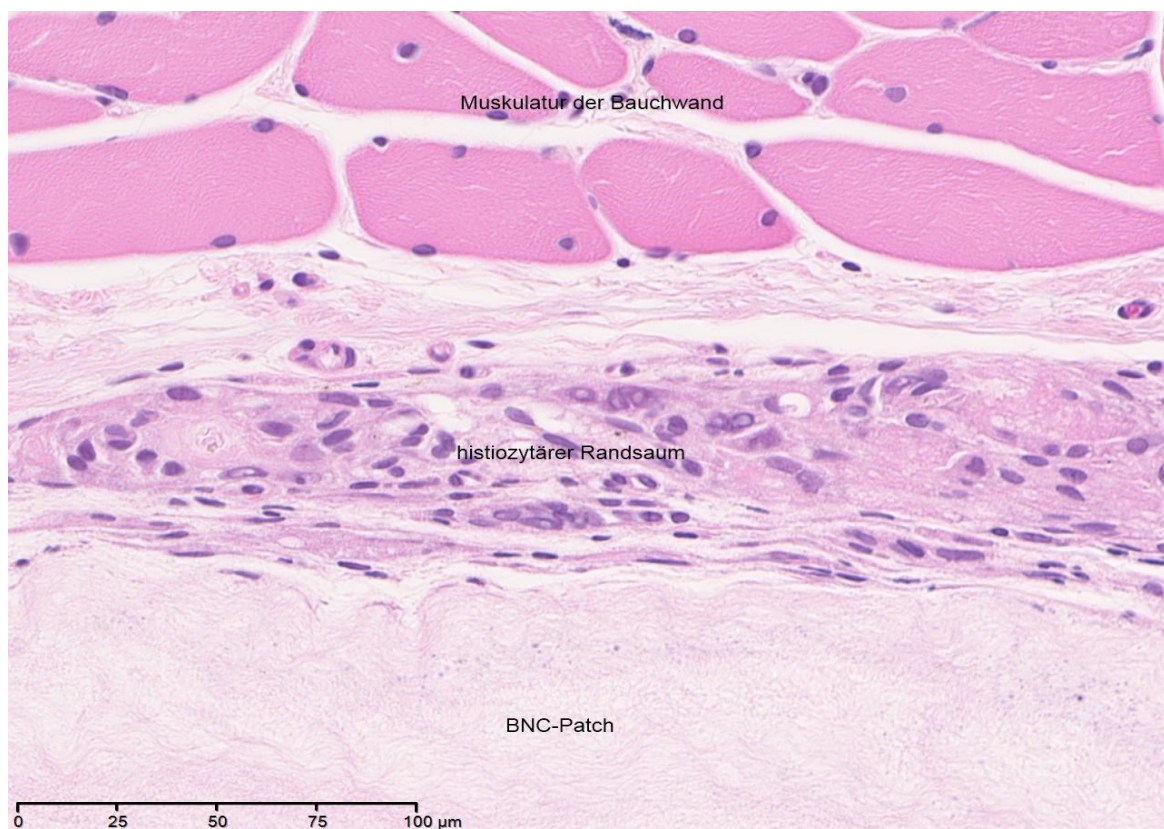


Abbildung 32: Typische Lage des BNC als Hernienmaterial zwischen Muskulatur der Bauchwand und Peritoneum; HE-Färbung, 200-fache Vergrößerung



Bei den Schnitten aus den Bauchwandersatz-Versuchen liegt das BNC ventral dem Peritoneum direkt auf, d. h. es wurde im Rahmen des Einheilungsprozesses von der Peripherie her mit Neoperitoneum bedeckt. Nach ventral wird es lediglich von dem bei der Ratte dünnen Subcutangewebe und der darüber liegenden Haut des Abdomens bedeckt (Abb. 33, 34). Auch beim BWE wird das Material nicht durchbaut, sondern von der Peripherie her eingescheidet. Histiozytäre Zellnester und bindegewebige Ausläufer finden sich auch hier lediglich in den Randbereichen sowie an Faltungszonen und Defektstellen der Materialoberfläche (Abb. 34).

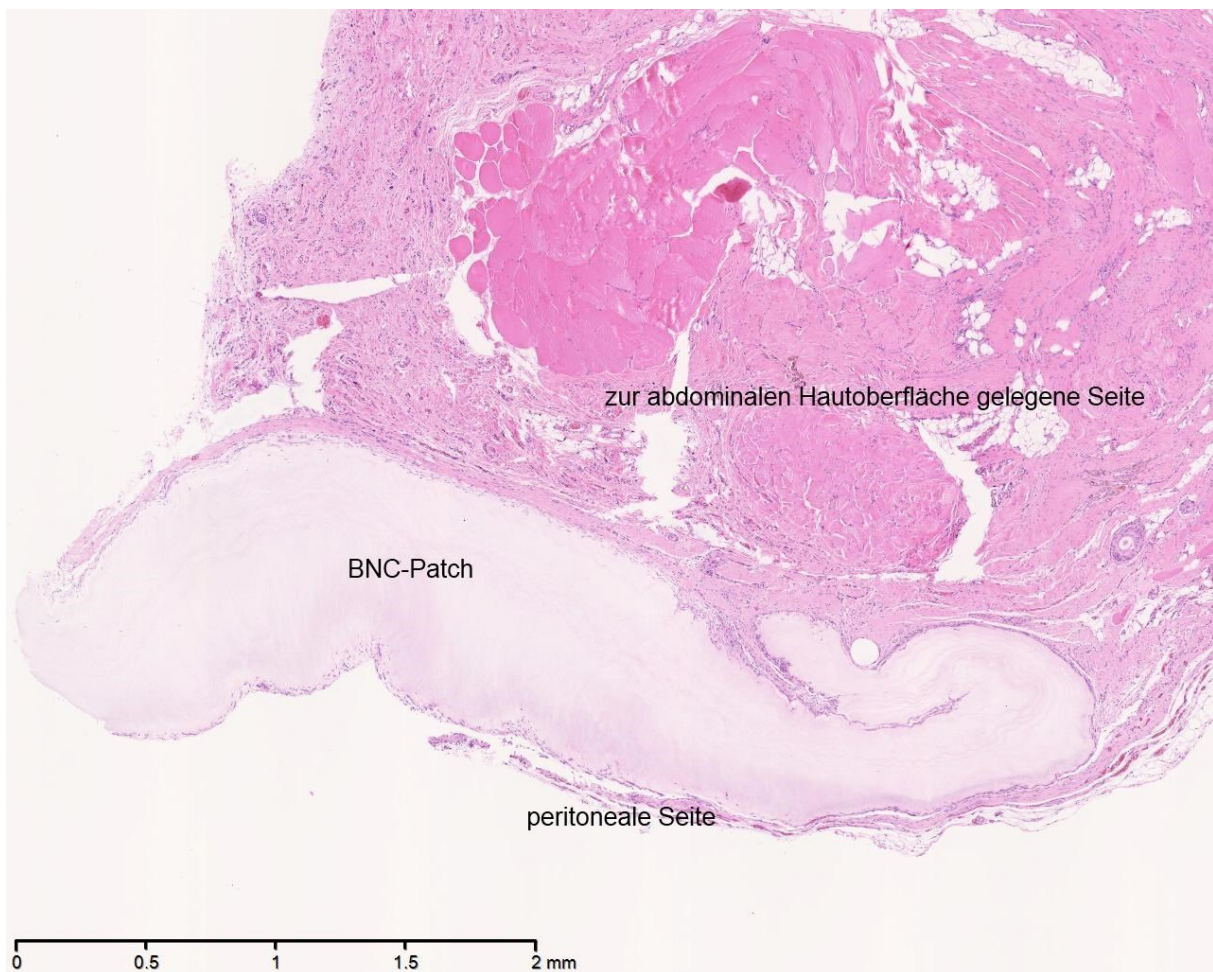


Abbildung 33: Typische Lage des BNC als BWE: Dorsal dem Peritoneum aufliegend und ventral an die Hautschicht anschließend; HE-Färbung, 100-fache Vergrößerung

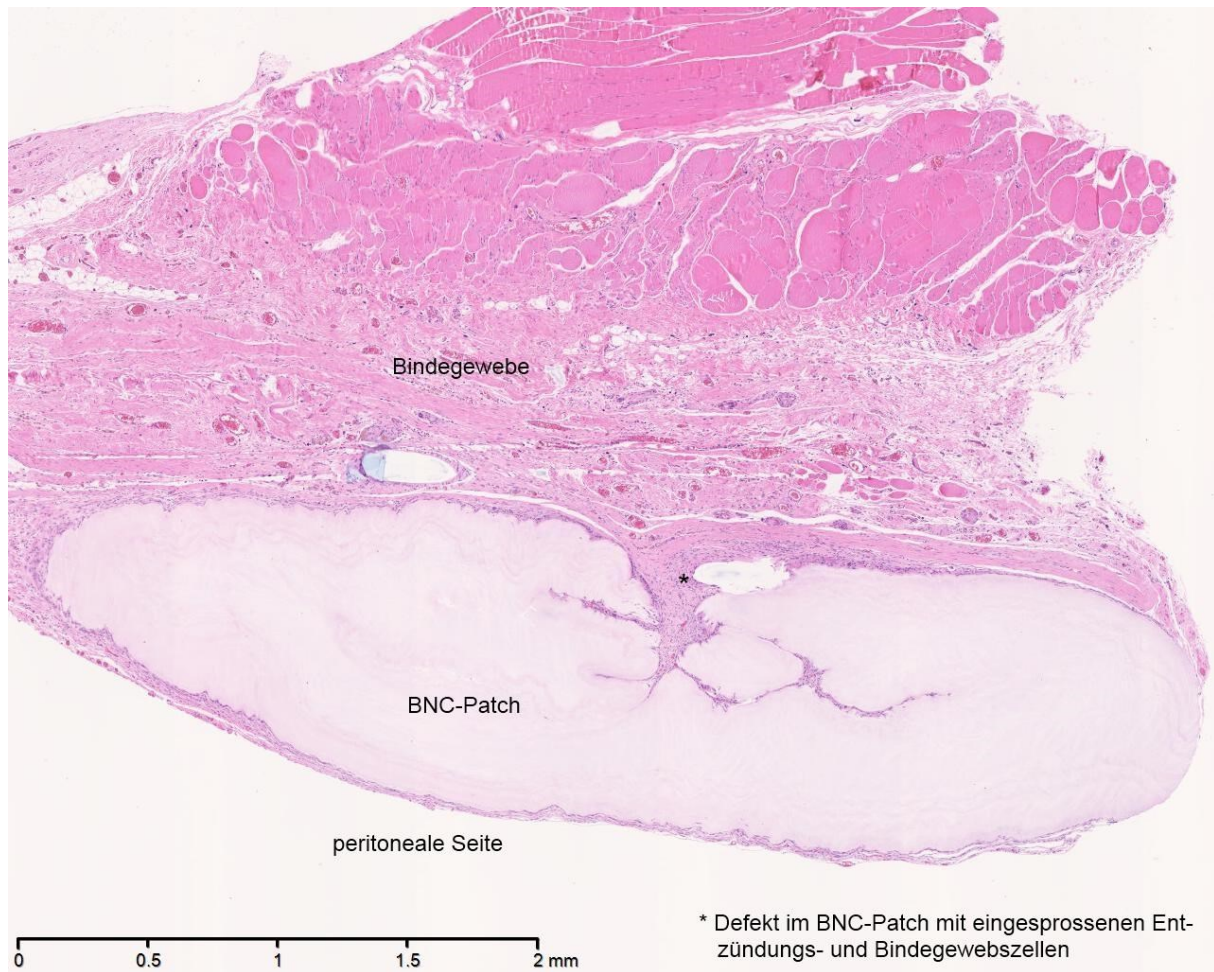


Abbildung 34: Typische Lage des BNC als BWE: Nach unten hin dem Peritoneum aufliegend und nach oben hin an die Hautschicht anschließend; HE-Färbung, 100-fache Vergrößerung

Das implantierte BNC erweckt aus histo-morphologischer Sicht den Eindruck eines annähernd inerten Materials. Es scheint von sich aus keinerlei überschießende Entzündungsreaktionen im umliegenden Gewebe auszulösen. Die histiozytären Anteile sind rein auf die unmittelbare Kontaktfläche zum umliegenden Gewebe beschränkt. Dies ist als Effekt der geringen Materialoberfläche zu sehen, im Gegensatz zur Netzstruktur eines aus Einzelfäden aufgebauten konventionellen Netzes. In Zonen verstärkter mechanischer Interaktion mit dem umliegenden Gewebe, wie den lateralen, medialen, kaudalen und kranialen Randbereichen, scheint es vermehrt dezente Entzündungsreaktionen zu verursachen.

#### *Elastica-van-Gieson-Färbung (EvG)*

Mit Hilfe der EvG-Färbung wurde das Ausmaß der Bindegewebsreaktion dargestellt. Im

Randbereich des Patches waren vermehrt histiozytäre Zellen anzutreffen. Die gemessene Dicke dieses histiozytären Randsaumes sollte Rückschlüsse auf die stattgehabte entzündliche Reaktion geben.

Gemessen wurden jeweils die zur Muskulatur und die zum Peritoneum liegende Seite an je fünf repräsentativen Stellen.

Auffällig war, dass es eine deutliche Variabilität in der Dicke gab. Dies war sowohl innerhalb eines Schnittes als auch zwischen den verschiedenen Schnitten der Fall.

In den BNC-Hernienversuchen wies die gemessene histiozytäre Reaktion im Randsaum auf der zur Muskulatur hin gelegenen Seite in den einzelnen Schnitten bzw. Tieren eine Dicke von 55,31 µm im Median auf (Tabelle 9).

Bei der zum Peritoneum angrenzenden Seite lag der Median der einzelnen Schnitte bei 46,32 µm (Tabelle 10).

*Tabelle 9: Dicke des histiozytären Randsaumes in µm auf der der Muskulatur zugewandten Seite*

**histiozytäre Reaktion im Randbereich zur Muskulatur**

Gruppe	Mittelwert	N	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Median
BNC (Patch in sublay-Position in Rektusscheide)	61,9965	20	18,25268	32,88	91,9	55,305

*Tabelle 10: Dicke des histiozytären Randsaumes in µm auf der dem Peritoneum zugewandten Seite*

**histiozytäre Reaktion im Randbereich zum Peritoneum**

Gruppe	Mittelwert	N	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Median
BNC (Patch in sublay-Position in Rektusscheide)	50,5329	14	18,96797	27,77	82,38	46,32

Insgesamt war in der EvG-Färbung feststellbar, dass die histiozytäre Reaktion auf der der Muskulatur zugewandten Seite (Abb. 35) allgemein ausgeprägter war als auf der dem Peritoneum zugewandten (Abb. 36). Dieser Unterschied erwies sich allerdings, wohl aufgrund der kleinen Stichprobe, im Wilcoxon-Test als nicht signifikant ( $p=0,096$ ).

Des Weiteren war in Bereichen mit erhöhter mechanischer Belastung ebenfalls, analog zur HE-



Färbung, eine ausgeprägtere histiozytäre Reaktion, ein stärkerer Besatz mit Kollagenfasern und eine vermehrte Neovaskularisation auffällig. Als derartige Bereiche wurden die jeweiligen Enden der BNC-Patches und Stellen, die eine Veränderung in der Homogenität verursachten, wie z. B. Knicke im Material, verstanden (Abb. 39).

Mit Ausnahme der beschriebenen Stellen mit höherer mechanischer Belastung stellte sich das Material als vergleichsweise wenig beeinflussend auf das umliegende Gewebe dar. Elastische Fasern, die für eine Neovaskularisation sprechen würden, waren kaum anzutreffen.

Im Bereich der Enden des jeweiligen BNC-Patches war jedoch ausnahmslos ein deutlich dickerer histiozytärer Randsaum zu erkennen als im mittleren Bereich des Patches. Trotz des Einwachsens von Zellinseln zeigte sich auch hier, dass das Material nicht in vollem Umfang durchbaut wird (Abb. 37, 38).

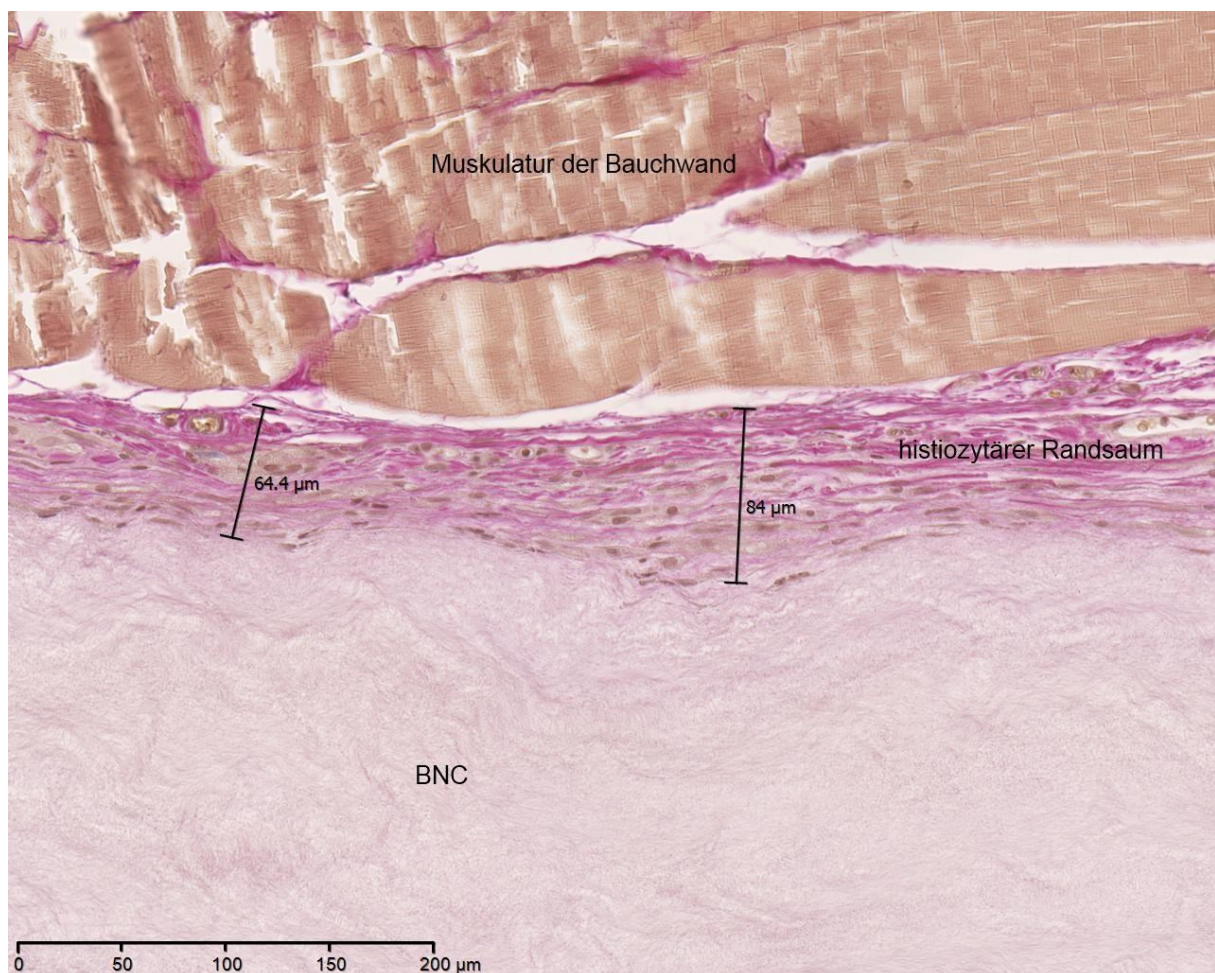


Abbildung 35: Histiozytärer Randsaum am Übergang BNC zu Muskulatur; EvG-Färbung, 800-fache Vergrößerung



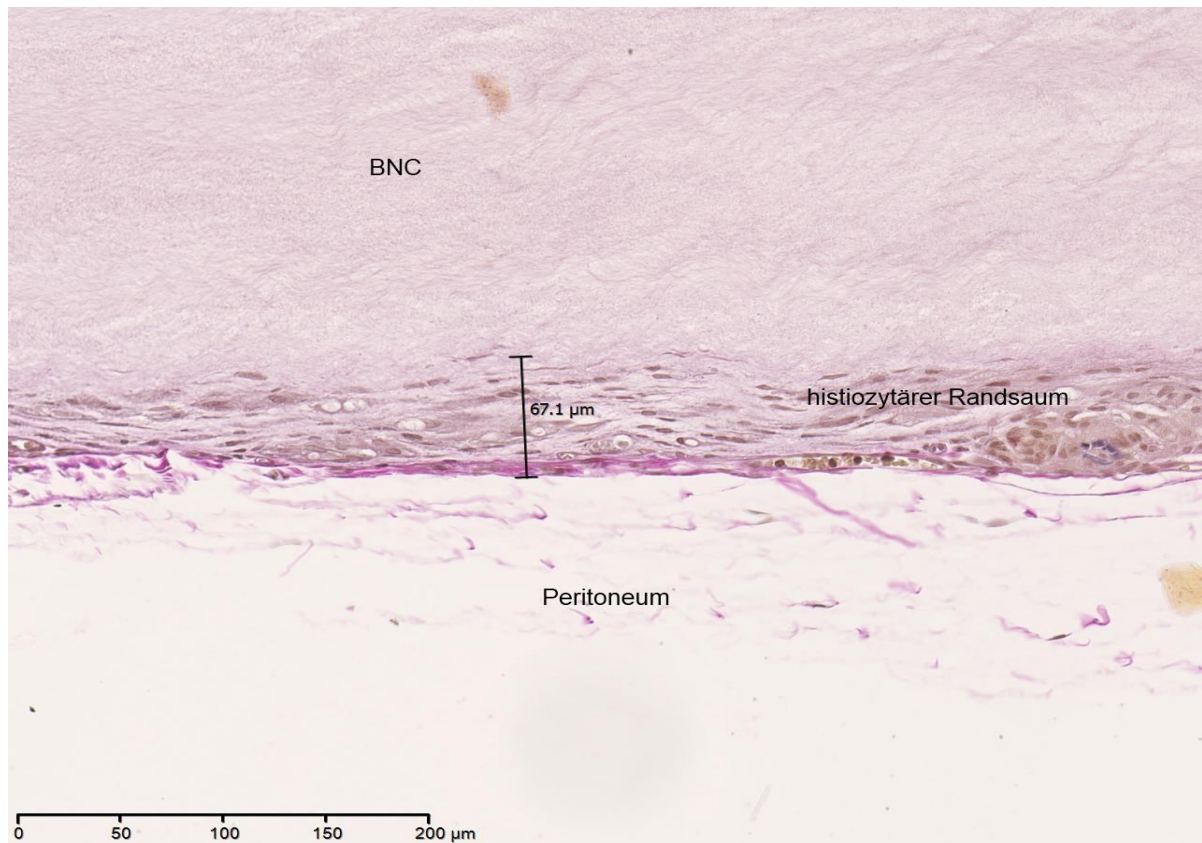


Abbildung 36: Histiozytärer Randsaum auf der dem Peritoneum zugewandten Seite; EvG-Färbung, 800-fache Vergrößerung

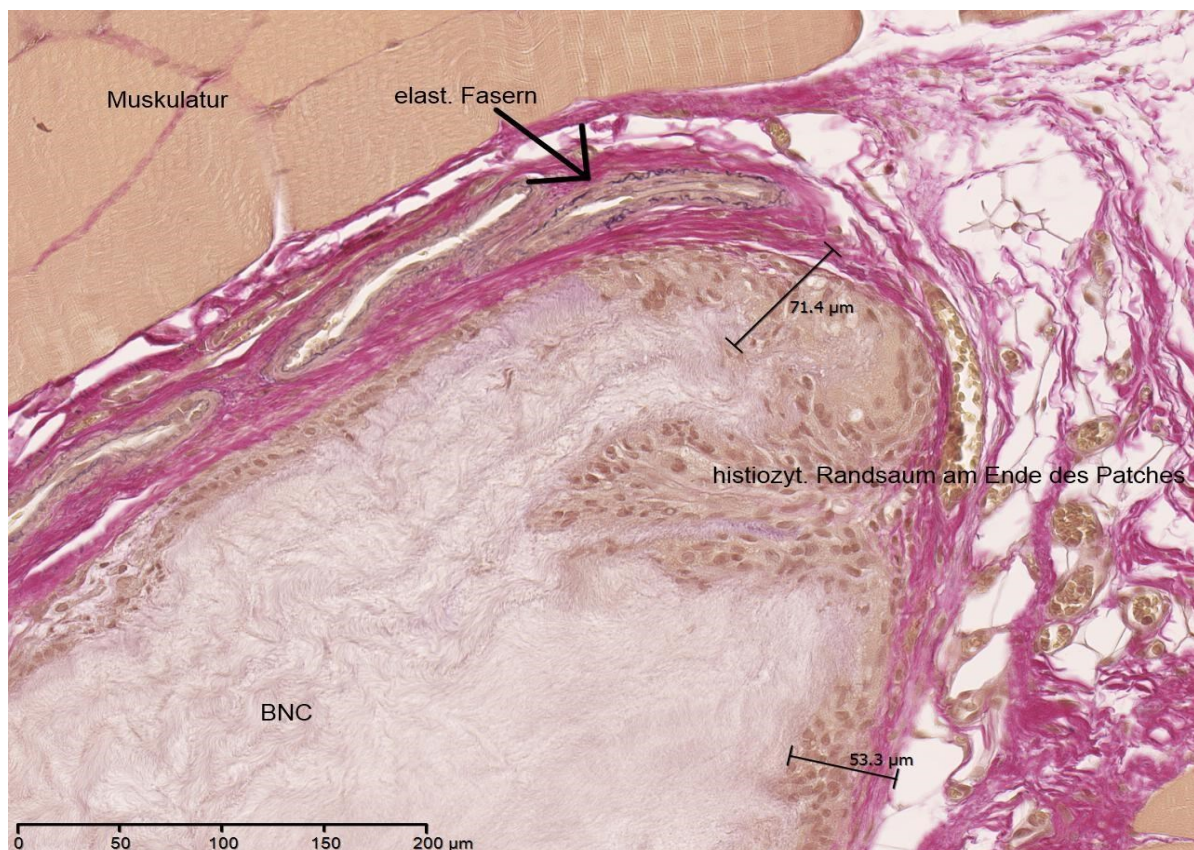


Abbildung 37: Vermehrte Neovaskularisation und ausgeprägter histiozytärer Randsaum im Bereich des Patch-Endes mit erhöhter mechanischer Belastung; EvG-Färbung, 800-fache Vergrößerung



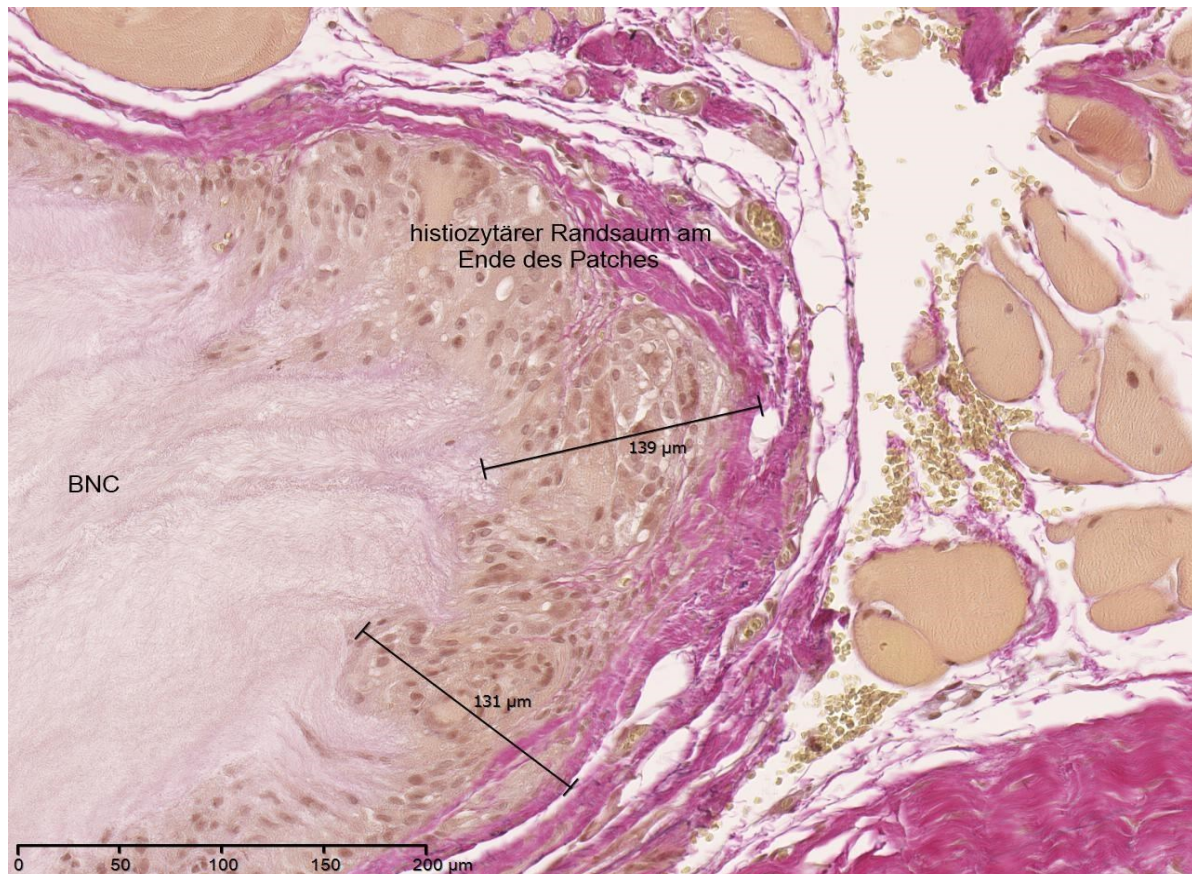


Abb. 38: Prominenter Randsaum im Bereich des Patch-Endes; EvG-Färbung, 800-fache Vergrößerung

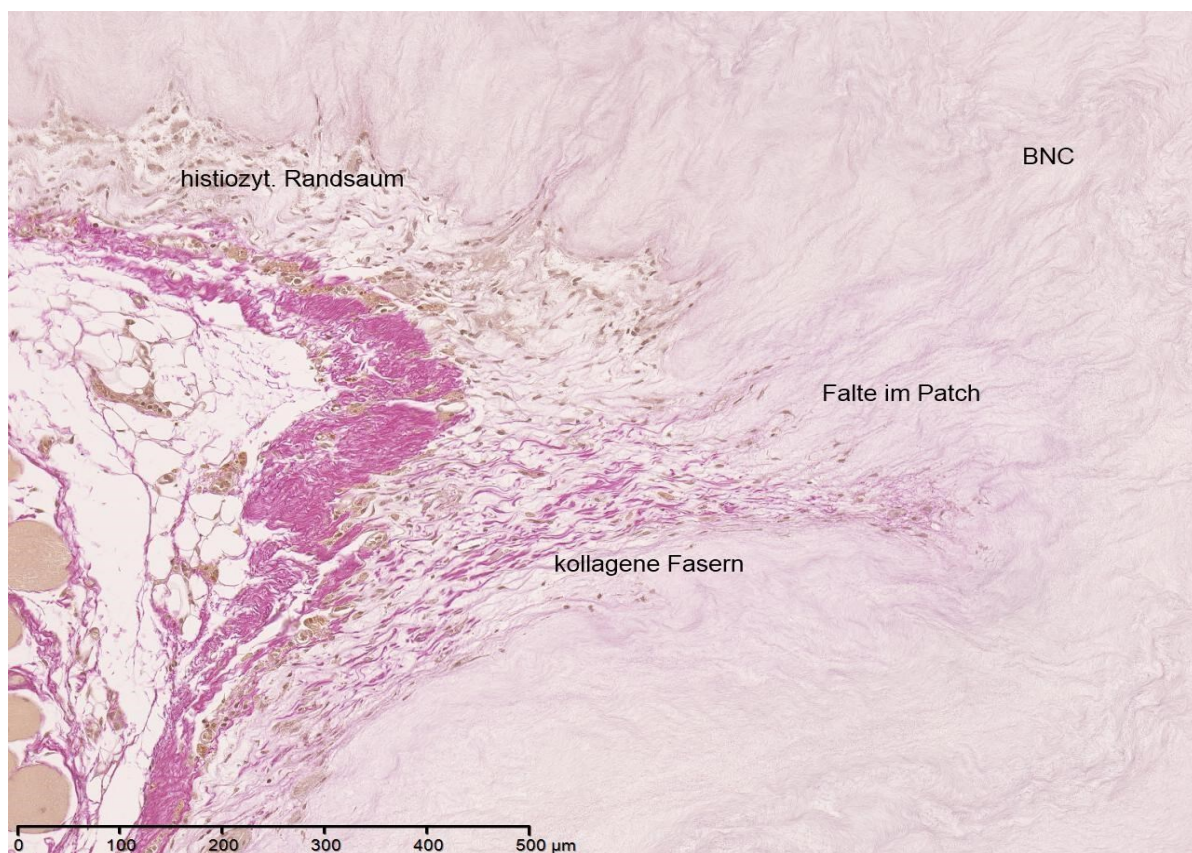


Abbildung 39: vermehrte kollagene Faserung und verbreiteter histiozytärer Randsaum im Bereich eines Knicks im Patch mit resultierender erhöhter mechanischer Beanspruchung; EvG-Färbung, 400-fache Vergrößerung



*Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-Färbung (ASDCL)*

Bei der Untersuchung der Umgebung des BNC-Patches im Vergleich mit dem restlichen Gewebe auf ASDCL-positive Zellen zeigte sich weder ein Unterschied in der Dichte noch in der Frequenz (Abb. 40). Es gab daher keinerlei Hinweise auf ein noch akutes Entzündungsgeschehen.

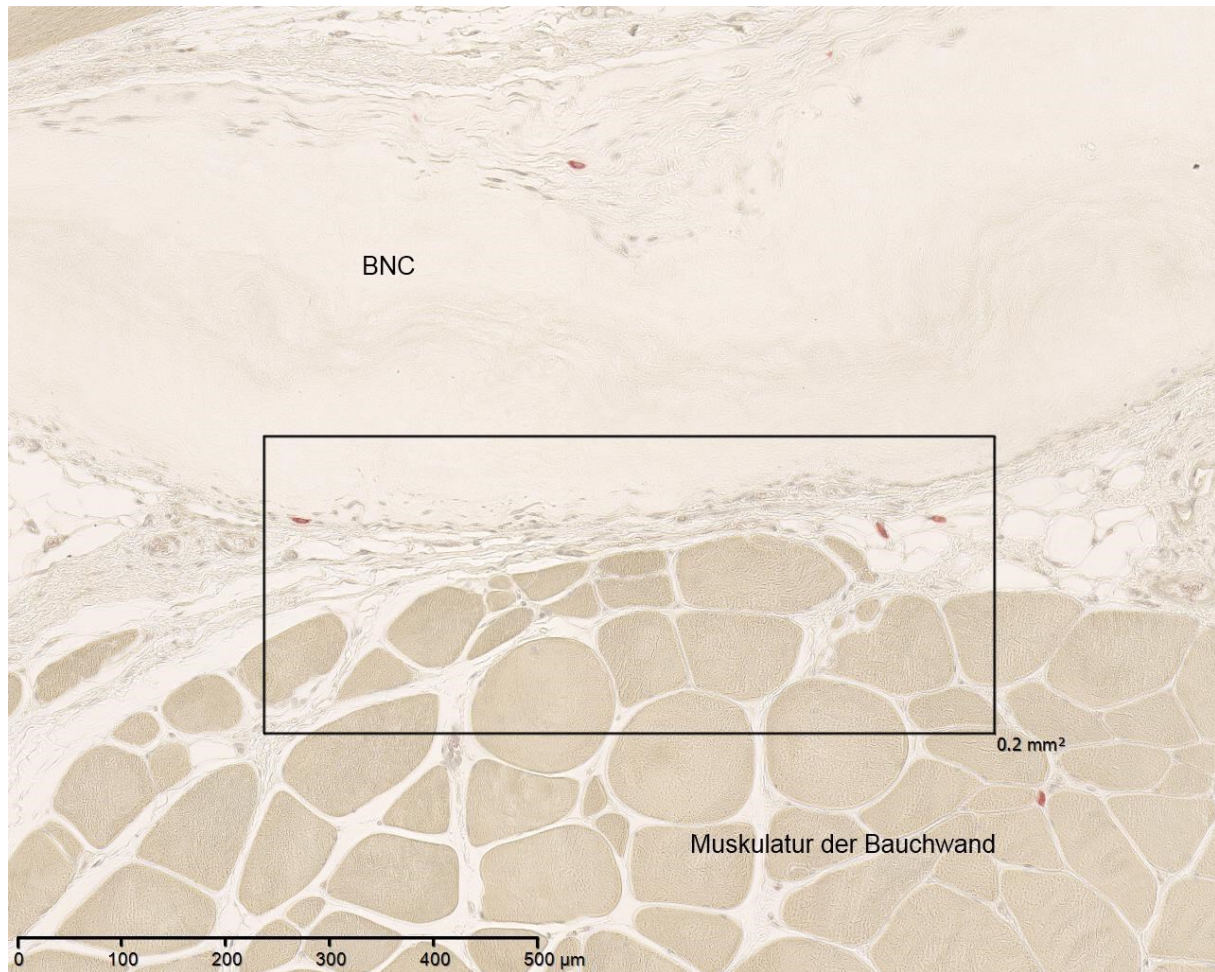


Abbildung 40: vereinzelt ASDCL-positive Zellen am Übergang BNC-Patch zu Muskulatur; ASDCL-Färbung, 400-fache Vergrößerung

*Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS)*

Mittels der PAS-Färbung wurden die entnommenen Proben auf mukoide Einlagerungen untersucht. Hierbei waren weder derartige Einlagerungen auffindbar, noch zeigten sich Hinweise einer Pilzinfektion des Materials oder seiner Umgebung (Abb. 41).

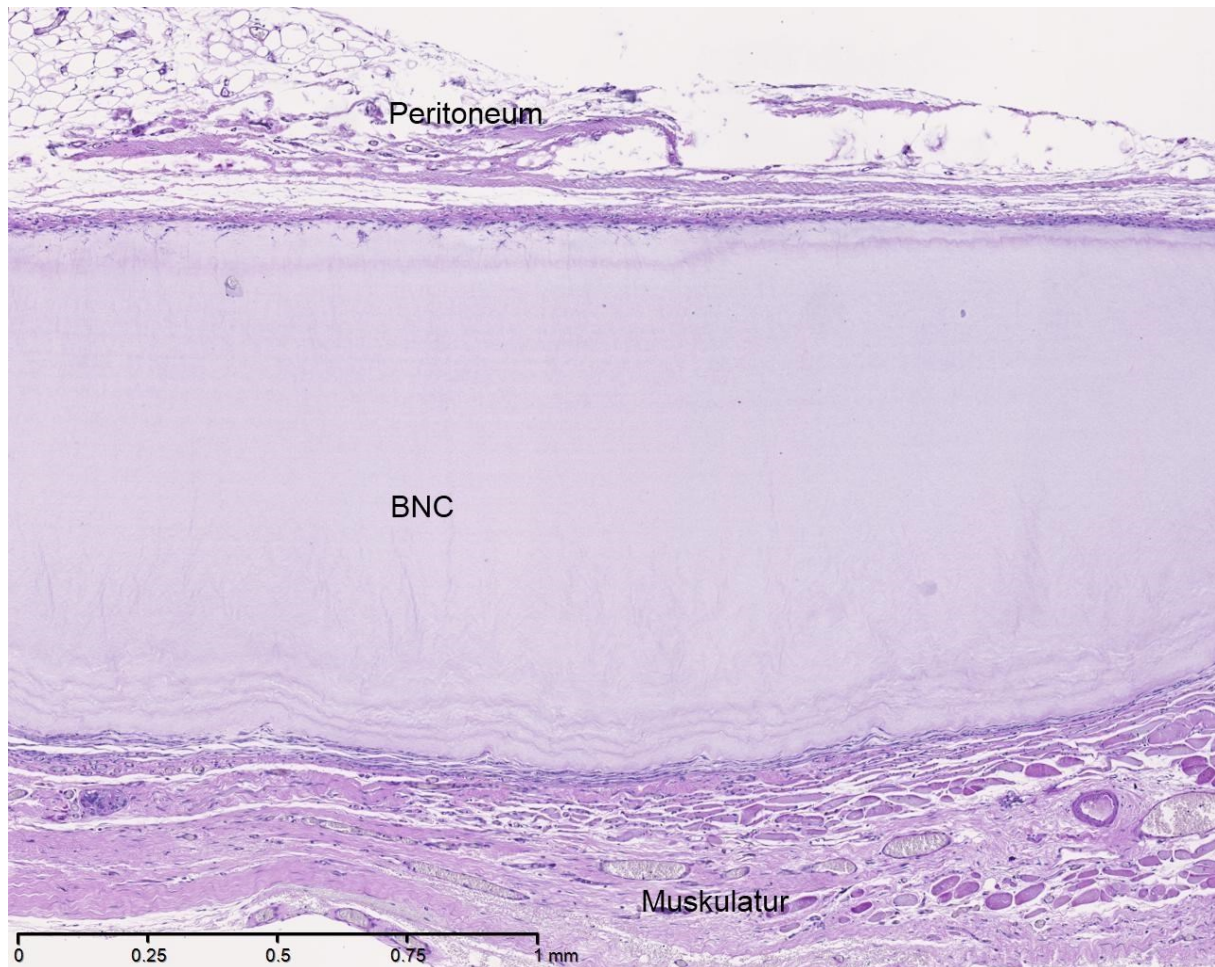


Abbildung 41: Exemplarische Darstellung eines Schnittes mit BNC als Hernienmaterial ohne mukoide Einlagerungen; PAS-Färbung, 100-fache Vergrößerung

#### *Bromdesoxyuridin-Färbung (BrdU)*

An den Patch-Enden (Abb. 43) wurden im Median 6,25 BrdU-positive Zellen gezählt und im Vergleich dazu in der Patch-Mitte (Abb. 42) 2,5 BrdU-positive Zellen ( $p < 0,001$ , Tab. 11).

Abbildung 45 veranschaulicht diesen signifikanten Unterschied.

Die mittels Jejunumpräparat gleichzeitig durchgeführten Positivkontrollen waren bei allen Tieren erfolgreich (Abb. 44).



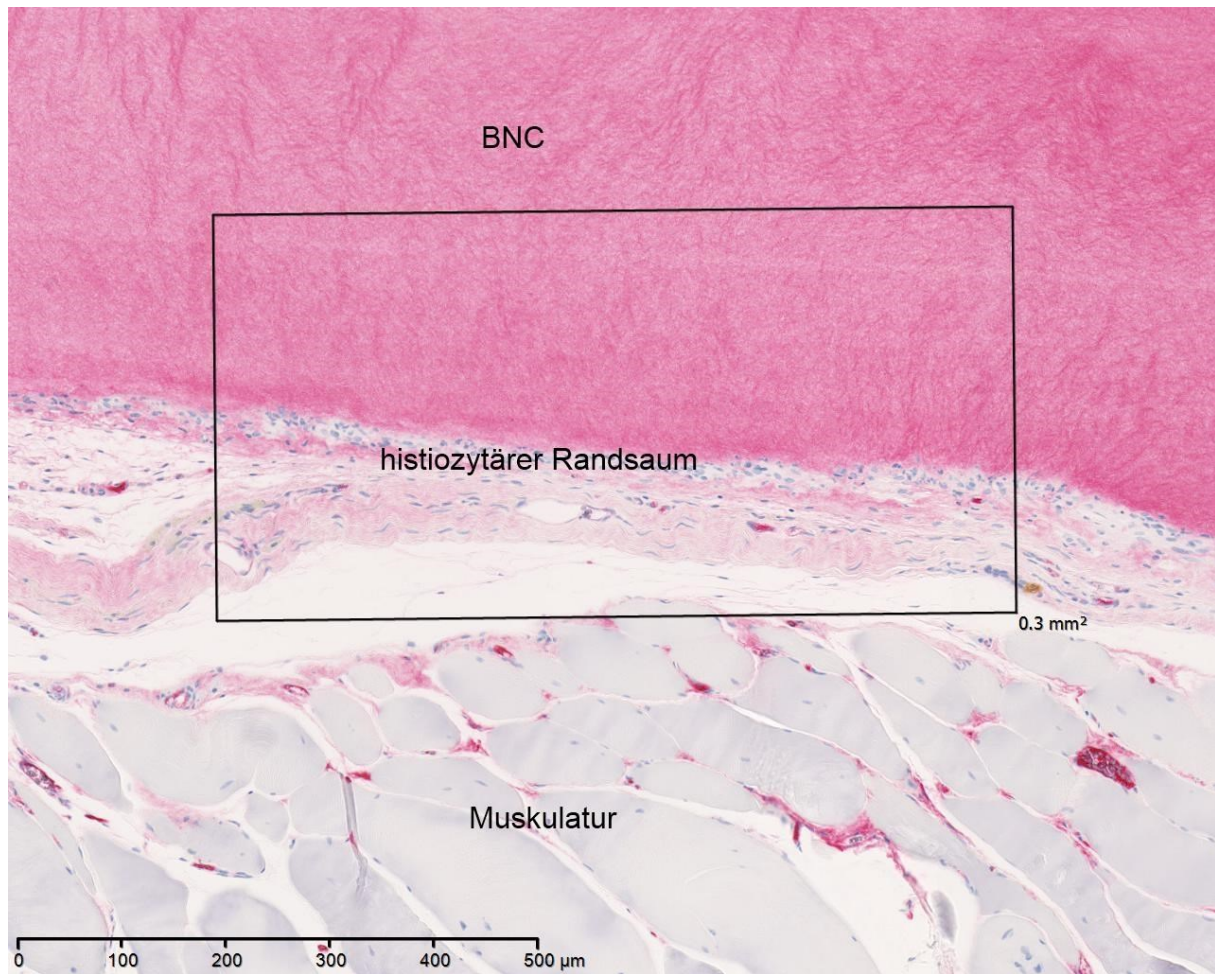


Abbildung 42: vereinzelt BrdU-positive Zellen im Randsaum im Bereich der Patch-Mitte; BrdU-Färbung, 400-fache Vergrößerung



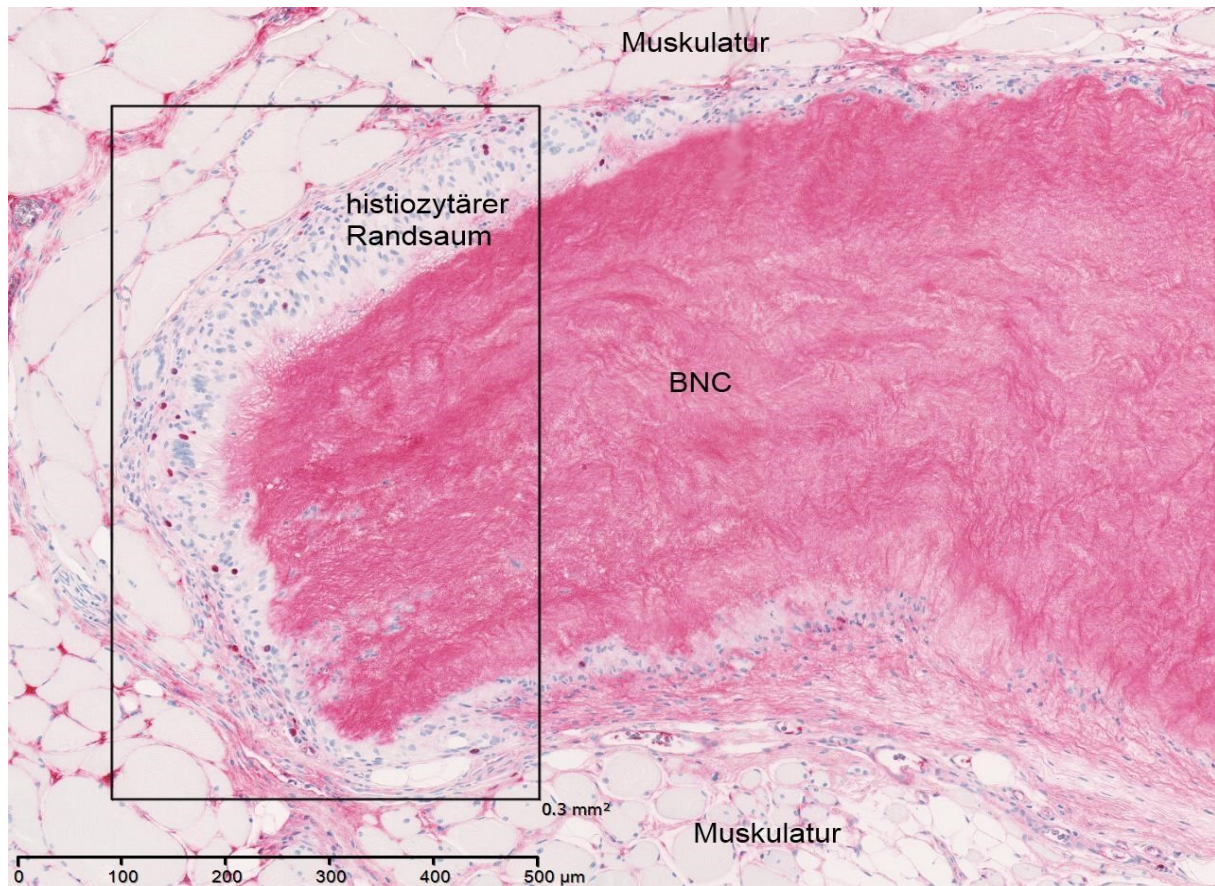


Abbildung 43: vermehrt BrdU-positive Zellen im Bereich des Patch-Endes; BrdU-Färbung, 400-fache Vergrößerung

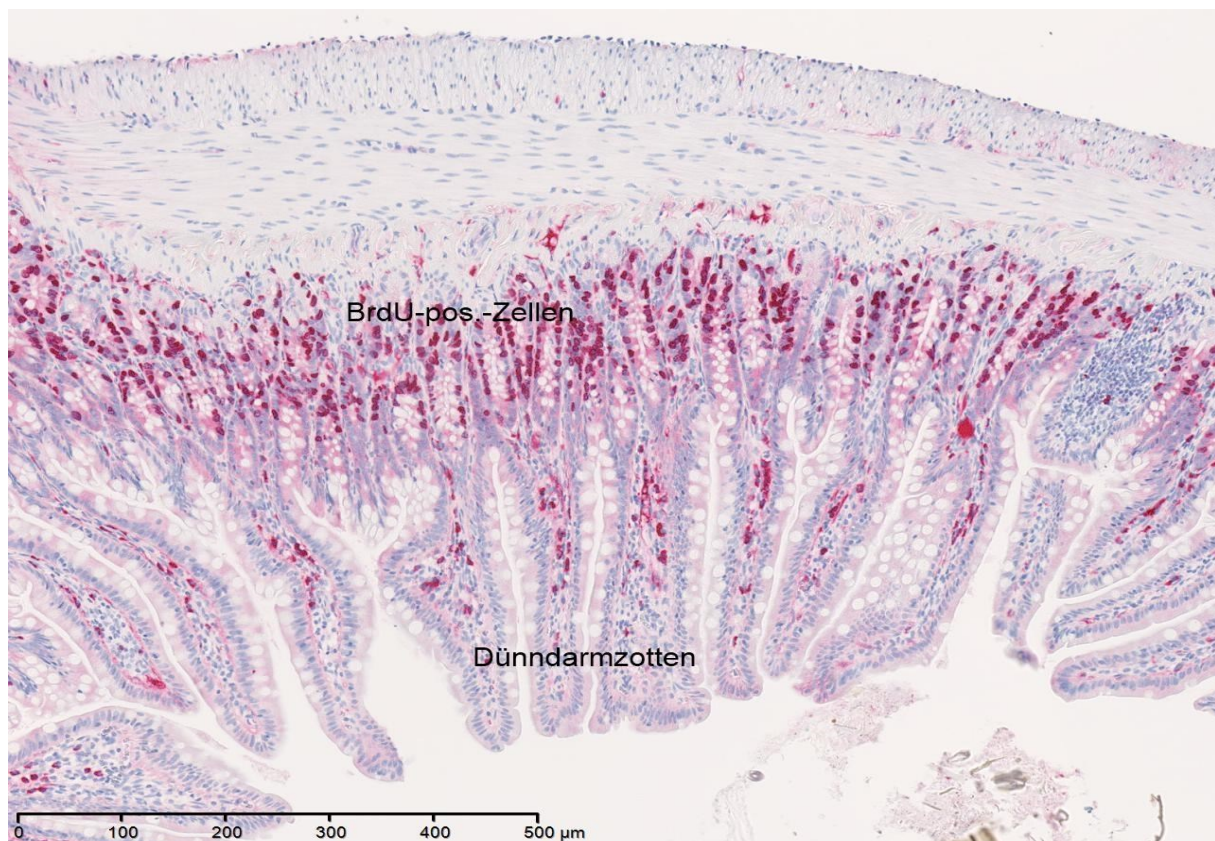


Abbildung 44: Dünndarmschnitt mit reichlich BrdU-positiven Zellen in der Mukosa als Positivkontrolle; BrdU-Färbung, 400-fache Vergrößerung

Tabelle 11: Häufigkeit der BrdU-positiven Zellen im Bereich der Patch-Enden bzw. der Patch-Mitte

	N	Mittelwert	Standardabweichung	Median
BrdU-positive Zellen im Bereich der Patchenden	20	6,275	3,96854	6,25
BrdU-positive Zellen im Bereich der Patchmitte	20	2,275	1,51723	2,5

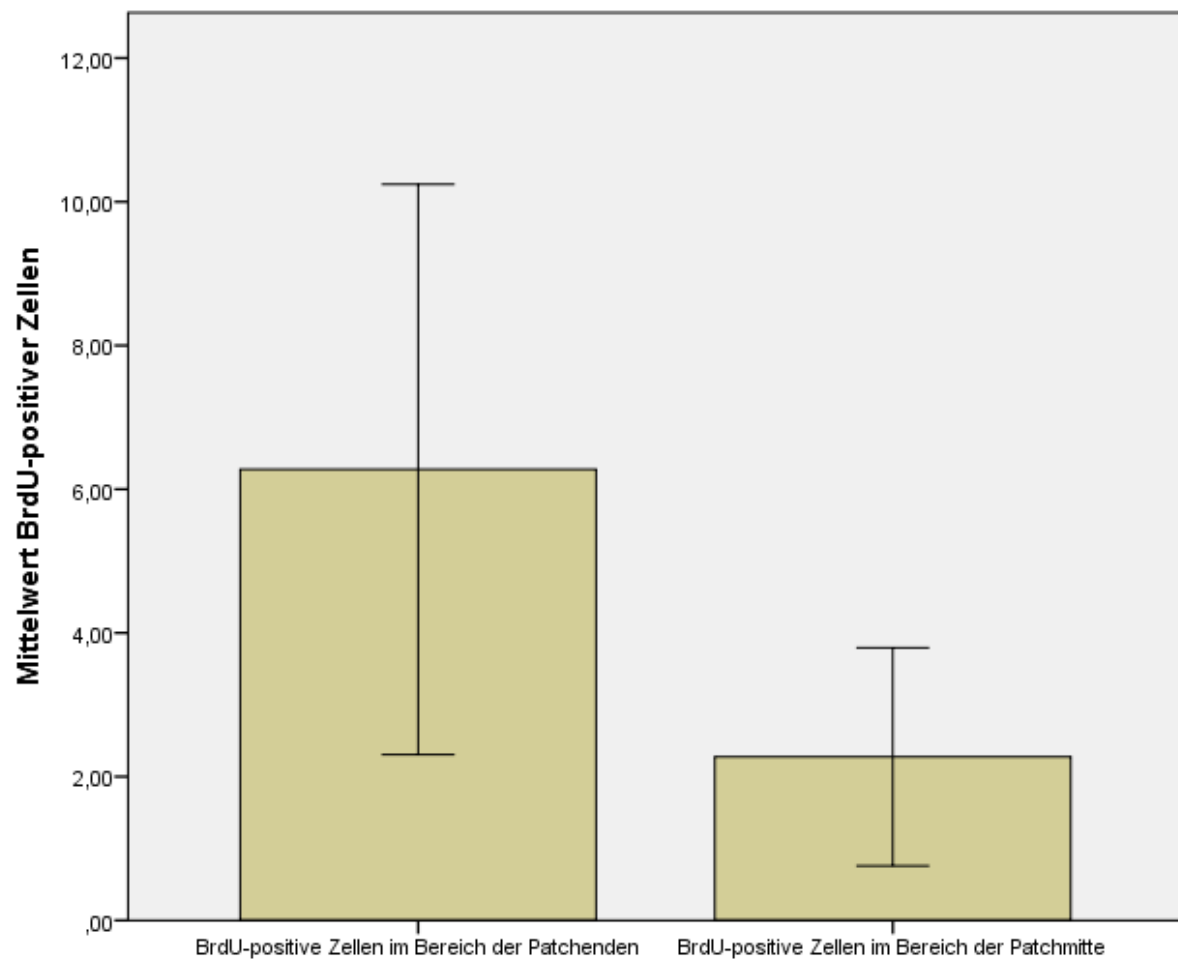


Abbildung 45: Mittelwert und Standardabweichung des Vorhandenseins von BrdU-positiven Zellen an den Patch-Enden und in der Patch-Mitte im Vergleich

## 5. Diskussion

Durch den heutzutage annähernd standardmäßigen Einsatz von alloplastischen Materialien bei der Versorgung von Hernien in der Bauchwand hat sich das Komplikationsspektrum verschoben. Bei erfolgreicher Senkung der Rezidivrate rückten seltene, teils materialvermittelte Komplikationen wie Serome, Adhäsionen, chronische Schmerzen, Fremdkörpergefühl und Netzinfectionen in den Vordergrund (Forbes et al. 2009, Jin et al. 2009). Die genauen, vermutlich multifaktoriellen Ursachen und Mechanismen dieser Komplikationen sind bis heute noch nicht vollständig geklärt.

Die Einheilung von Hernienimplantaten ist ein komplexer Prozess, der in Teilen den Gesetzmäßigkeiten der Wundheilung folgt. Ein Zusammenspiel aus humoralen Wechselwirkungen und zellvermittelten Einheilungsvorgängen ermöglicht die Gewebeinkorporation des Netzimplantats. Das Ausmaß der Fremdkörperreaktion ist im Wesentlichen von der Art und Modifikation des Materials abhängig und bestimmt letztlich die Biokompatibilität.

Den Einfluss des Materials BNC auf die Biokompatibilität und die speziellen Materialeigenschaften zu ermitteln stellte das Ziel unserer Studie dar. Aufgrund der Komplexität der Wachstumsvorgänge lässt sich dies nicht hinreichend mit in-vitro-Methoden (z. B. Zellkultur) ermitteln. Ein biologisches Testsystem mit menschenähnlichem Einheilungsverhalten und vergleichbarer Biokompatibilität (plazentare Säuger) war daher erforderlich. Aufgrund der anatomischen Ähnlichkeit fiel die Wahl auf das Ratten-Modell. Das Ratten-Modell ist zudem als Tiermodell in der Hernienforschung gut etabliert, was eine gute Vergleichbarkeit mit früheren Studien gewährleistet.

Die allgemeinen Anforderungen an ein Hernienimplantat sind recht exakt definiert (s. Tab. 1). Es soll nicht kanzerogenen, chemisch und gegenüber Gewebe- und Körperflüssigkeiten inert, mechanisch stabil und belastbar, sterilisierbar, nicht allergen und im erforderlichen Ausmaß möglichst kostengünstig herstellbar sein. Außerdem soll es in der Lage sein, im Organismus nur eine „umschriebene“ Fremdkörperreaktion auszulösen (Cumberland 1952, Scales 1953, Hamer-Hodges und Scott 1985). Bisher ist kein handelsübliches Implantat in der Lage, alle geforderten Eigenschaften zu erfüllen. Ausnahmen stellen lediglich biologische Implantate dar, denen zahlreiche Experten ein „großes Potential“ bescheinigen (Shankaran et al. 2011). Problematisch stellen sich hierbei die in Kauf zu nehmende unzureichende mechanische (Langzeit)-Stabilität und ein gewisses allergenes Potential dar. Aus diesem Umstand ergibt sich,



dass auch 50 Jahre nach der Einführung synthetischer Materialien in der Hernienversorgung die Suche nach optimalen Materialien bis heute anhält. Dies und günstige Erfahrungen im Zusammenhang mit BNC in verschiedenen anderen biomedizinischen Anwendungen führte zu der Frage, inwieweit BNC als Hernienimplantat und Bauchwandersatzmaterial geeignet ist. Bei einer theoretischen, systematischen Betrachtung erfüllt es mit seinen bereits gut charakterisierten Materialeigenschaften (Klemm et al. 2011, Petersen und Gatenholm 2011) die o.g. Bedingungen. Es ist chemisch inert, mechanisch sehr stabil mit guter Reißfestigkeit bei gewebeähnlicher Dehnbarkeit (der einzelne Cellulosefaden hat eine dem Stahl ähnliche Stabilität), kann sterilisiert werden und lässt sich kostengünstig in ausreichendem Umfang herstellen. Anhaltspunkte für ein allergenes oder karzinogenes Potential konnten in keiner der bisherigen Studien mit BNC gefunden werden. Auch nach jahrelangem Einsatz als Wundauflage fand sich kein derartiges Potential (Klemm et al. 2001).

Von den theoretischen Überlegungen und geforderten Voraussetzungen her präsentiert sich BNC demnach als ideal geeignetes Material. Unklar bleiben allerdings ihre Biokompatibilität und ihre Reaktion auf Gewebe- und Körperflüssigkeiten. Diese offenen Fragen sollten im Rahmen der vorliegenden Studie näher erforscht werden. Darüber hinaus sollten weitere in der heutigen Zeit geforderte Charakteristika evaluiert werden (siehe Kapitel 1.3, (Shankaran et al. 2011)). Hierzu zählt neben einer möglichst ausgeprägten Infekteresistenz, einer vertretbaren Schrumpfung und der Vermeidung von Adhäsionen, vor allem die Fähigkeit, mechanisch und funktionell wie natürliches Gewebe zu reagieren.

Bei der Umsetzung dieses Ansatzes bedienen wir uns im Hinblick auf die Implantationstechnik im Hernienmodell eines Sublay-Modells, das in Anlehnung an Tanaka et al. entwickelt wurde. In deren Rattenmodell wurde nach einem 3 cm Längsschnitt entlang der Linea alba bis auf das Peritoneum die Rektusmuskulatur vom Peritoneum getrennt, um zwei extraperitoneale Räume zu schaffen. In diese wurden im Anschluss 1 cm im Durchmesser messende Netze eingelegt und fixiert und abschließend die Laparotomie verschlossen (Tanaka et al. 2007).

Die überwiegende Mehrheit der experimentellen Literatur in Bezug auf Hernienversuche im Kleintiermodell beschreibt beinahe ausschließlich intraperitoneale Implantationen oder Simulationen einer Onlay-Situation mit subkutanen Implantationen (Bellon et al. 2009, Burger et al. 2006, Gruber-Blum et al. 2011, Harth et al. 2011, Klinge et al. 2002b, Makisalo 1989, Matthews et al. 2005, Petter-Puchner et al. 2008b, Petter-Puchner et al. 2011b, Petter-Puchner et al. 2011a, Turial et al. 2010). Das Sublay-Modell stellt allerdings, aufgrund der allgemein präferierten Anwendung im klinischen Alltag, das deutlich realitätsnähere Modell dar. Der

Frage, ob und wie sich ein derartiges Verfahren bei der Ratte realisieren lässt, wurde mit umfassenden anatomischen Studien und einem anschließenden Pilotversuch nachgegangen. Durch den in Kapitel 3.3.2 beschriebenen Zugang lässt sich auch bei noch nicht ausgewachsenen Ratten, wie in unserer Studie, problemlos ein 4 x 1 cm messendes Netzipimplantat einbringen. Zu beachten ist hier, dass die Ratte kein gewebestarkes hinteres Faszienblatt besitzt, weshalb die retromuskuläre/präperitoneale Präparation schrittweise und mit höchster Sorgfalt erfolgen muss, um das Setzen peritonealer Defekte zu vermeiden. Der Vergleich der Ergebnisse aus dem BNC-Hernienversuch mit denen aus dem Sublay-Modell der Parallelversuche mit PTFE- und PP-Netzen bot sich aufgrund identischer, standardisierter Bedingungen an.

Bei den Versuchen zum Bauchwandersatz waren andere bzw. zusätzliche Anforderungen an das Material zu stellen. So war eine höhere mechanische Stabilität und in Bezug auf einen möglichen kinderchirurgischen Einsatz die Möglichkeit des „Mitwachsens“ gefordert. Hier konnten wir ein gänzlich neues Modell etablieren. In der vorhandenen Literatur existieren bereits umfassende Daten zur teilweise in zweizeitigen Operationen durchgeführten Versorgung eines Bauchwanddefekts mit intraperitonealen Netzen. Wir wählten nach den Erkenntnissen aus dem Pilotversuch ein Modell, durch das gezielt eine adäquate Weichteildeckung mit verminderter Infektionsgefahr über dem gesetzten Defekt realisiert werden sollte. Die Besonderheiten dieses neuen Modells lagen in der einzeitigen, offenchirurgischen Versorgung, dem bewusst groß gesetzten Defekt und der Implantation mittels Inlay-Plastik. Außerdem wurde der Defekt fernab des cutanen Zugangsweges gesetzt und am Ende mit einem zusätzlichen subcutanen Wundverschluss versehen (Ziel der subcutanen Kompartimentierung).

Neben der Frage der Durchführbarkeit eines Bauchwandersatzes mit BNC standen vor allem die mechanische Stabilität und das Einwachsverhalten in die Bauchdecke im Vordergrund der Untersuchungen.

Sowohl im Hernienversuch als auch beim Bauchwandersatz lag ein besonderes Augenmerk auf einer möglichen biologischen und mechanischen Degeneration.

Beide neu eingeführten Modelle haben sich bewährt und können für zukünftige Studien mit ähnlichen Fragestellungen eindeutig empfohlen werden.

In aktuellen großen Reviews wurden bislang gesammelte Erkenntnisse über BNC zusammengetragen und hinsichtlich ihrer materialwissenschaftlichen Eigenschaften und ihres

Potentials für klinische Anwendungen evaluiert (Petersen und Gatenholm 2011, Klemm et al. 2011). Hierbei zeigten sich drei wesentliche Aspekte: 1. BNC weist eine Reihe materialspezifisch günstiger Eigenschaften auf, 2. BNC zeigt eine gute bis sehr gute Biokompatibilität und 3. BNC wird ein hohes Potential hinsichtlich medizinischer Anwendungen zugetraut. Mit dem Ziel, die Fremdkörper- und Entzündungsreaktion durch BNC näher zu charakterisieren, verwendeten Helenius et al. ein subcutanes Ratten-Modell. Als Ergebnisse fanden sich dabei keine makroskopischen oder mikroskopischen Entzündungszeichen, keine fibrotische Einkapselung und keine Fremdkörperriesenzellen. Das Material wurde von Fibroblasten infiltriert und gut in das Empfängergerewebe integriert (Helenius et al. 2006). In einem Vergleich von BNC mit ePTFE und Polyglycolsäure im Hamster-Modell zeigte BNC als Gefäßimplantat ebenfalls eine gute Biokompatibilität (Esguerra et al. 2010).

Die bisher einzige Studie mit BNC als Implantat in der Bauchdecke stammt aus Brasilien und bediente sich ebenfalls eines Rattenmodells (Falcao et al. 2008b, Falcao et al. 2008a). Nach der Unterteilung von 60 Ratten in zwei gleichgroße Gruppen, wurden zuvor erzeugte Bauchwanddefekte mit BNC- bzw. ePTFE-Membranen verschlossen und hinsichtlich ihres Inkorporationsverhaltens und ihrer biomechanischen Eigenschaften untersucht. Auch wenn der Gruppe um Falcao die Erstuntersuchung von BNC in diesem Einsatzgebiet angerechnet werden muss, offenbart diese tierexperimentelle Studie doch einige erhebliche Mängel. Zunächst wurde BNC aus *Zoogloea* sp. verwendet, wohingegen weltweit BNC aus *Acetobacter xylinus* am intensivsten erforscht ist. Hierdurch lassen sich die Ergebnisse schlecht mit anderen Studien vergleichen und die Frage, inwieweit die erzielten Ergebnisse materialbedingt sind, bleibt offen (Petersen und Gatenholm 2011). Außerdem wurde eine doppelte Lage des Materials verwendet, ohne dass sich Angaben zur Dicke finden. Ebenso wurde das Material luftgetrocknet und teilweise komprimiert, was die mechanische Stabilität in Mitleidenschaft zieht (Klemm et al. 2011, Brown et al. 2011). Gemessen an der Defektgröße und den anatomischen Verhältnissen der Ratte wurde das Material auch mit sehr weiten Stichabständen eingenäht. Angaben zur Standardisierung finden sich lediglich für die Defektgröße und die ePTFE-Probe, nicht aber für die BNC-Probe. Die verwendeten ePTFE-Patches wurden zudem aus Gefäßprothesen entnommen und weisen somit einen Porendurchmesser von durchschnittlich 25 µm auf. Als Standardmaterial für den Einsatz in der Bauchwand werden hingegen abdominelle Patches mit einem durchschnittlichen Porendurchmesser von 3-22 µm verwendet. Da der Porendurchmesser für die Inkorporation von ePTFE den wichtigsten Faktor darstellt, könnten die Ergebnisse hierdurch verfälscht sein (Matthews et al. 2003, Voskerician et al. 2007, Zhang

et al. 2004). Die Porengröße von BNC aus *Zoogloea* sp. beträgt außerdem nur 0,07 µm (Falcao et al. 2008a), womit sie um den Faktor 140 geringer ist als die von *Acetobacter* produzierter BNC (10 µm, (Petersen und Gatenholm 2011)). Diese deutlich unterschiedliche Porengröße lässt einen Vergleich mit den Ergebnissen unserer Studie nur eingeschränkt zu.

Bei den mechanischen Testungen wurde in unserer Studie bewusst nicht an der Grenzfläche von Implantat und Bauchdeckenkompartiment gemessen. Falcao et al. testeten allerdings insbesondere das Implantat / Empfänger Interface und beschrieben eine geringere Zugfestigkeit von BNC gegenüber ePTFE sowie eine vermehrte zelluläre und kollagene Ummantelung von ePTFE (Falcao et al. 2008b).

All die genannten erheblichen Unterschiede in Methodik und Materialtechnik offenbaren, dass die Ergebnisse dieser Pionierstudie mit denen unserer Studie kaum verglichen werden können.

In unseren Untersuchungen kamen in Anbetracht der anatomisch unterschiedlichen Situation beider Ansätze BNC-Vliese unterschiedlicher Dicke zum Einsatz (Sublay 1 - 1,5 mm, BWE 1,5 - 2,0 mm). Die Proben wurden mit dem Bakterienstamm *Gluconacetobacter xylinus*, für den die meisten Referenzen existieren, biosynthetisiert und stammen aus dem Labor POLYMET Jena, das weltweit zu den erfahrensten mit dieser Produktionsmethode gehört (Kralisch et al. 2010, Klemm et al. 2011).

Der postoperative Gewichtsverlauf zeigte ein Maximum des Gewichtsverlustes nach 3 Tagen im Sublay- und nach 4 Tagen im BWE-Modell. Das BNC-Sublay zeigte sich somit identisch zu den Vergleichsgruppen eines analogen Hernienmodells mit konventionellen Herniennetzen. Das mit einem Tag Verzögerung einsetzende Maximum in der BWE-Gruppe ist aller Wahrscheinlichkeit nach als Ausdruck des größeren Operationstraumas zu deuten. Bei der nach Erreichen des Maximums einsetzenden, bis zum Versuchsende anhaltenden Gewichtszunahme ist zu berücksichtigen, dass die Tiere zum Zeitpunkt der Operation noch nicht ausgewachsen waren.

Bei keinem der Tiere beider Gruppen ließen sich Wundheilungsstörungen oder Infektionen nachweisen. Bei 30 % der Tiere aus der BNC-Sublay-Gruppe und bei 33,3 % der BWE-Gruppe bildeten sich für durchschnittlich 5,7 bzw. 4,3 Tage Serome aus, die anschließend klinisch und sonographisch kontrolliert wurden. Bis zur 2. Ultraschalluntersuchung am 31. postoperativen Tag hatten sich bei allen Tieren die Serome vollständig zurückgebildet. Im Vergleich zu den BNC-Tieren wiesen die Tiere der konventionellen Gruppe eine geringere Frequenz (25 %) bei allerdings erhöhter Rückbildungszeit (6,2 Tage) der Serome auf. Die sonographischen

Verlaufskontrollen der Bauchwand waren im Folgenden die wesentliche Basis der postoperativen Nachuntersuchungen. Diese Methode wurde für diesen Einsatz in Rattenmodellen bisher nicht beschrieben, obwohl sie eine sehr valide, kostengünstige Methode darstellt und eine genaue Beurteilung der klinischen Situation ermöglicht. Speziell die Seromgröße im zeitlichen Verlauf und die Veränderungen im BNC-Bindegewebs-Komplex waren für uns von Interesse und insgesamt sehr gut beurteilbar. Alle gefundenen Serome lagen subcutan, ohne dass ein direkter Bezug zu einer der Rektusscheiden nachweisbar war. Die Serome sind vermutlich eher zugangs- und nicht materialbedingt, da sich bei den Vergleichsgruppen (Sublay mit konventionellen Netzen) ebenfalls Serome ähnlichen Ausmaßes und mit einer ähnlichen Rückbildungszeit fanden. BNC scheint also hinsichtlich einer Serombildung kein schwerwiegendes Problem darzustellen bzw. die Serombildung ähnelt, sollte sie doch überwiegend materialbedingt sein, derjenigen herkömmlicher Netze aus PTFE oder PP. Am meisten gegen die Materialbedingtheit der Serome spricht das Argument, dass sie sich im Hernienversuch allesamt subcutan und nicht retromuskulär bzw. präperitoneal / faszial befanden. Bei materialbedingter Serombildung wäre demnach die Hauptmenge des Seroms um das Material zu erwarten und zu finden.

In der sonographischen Dickenanalyse des Kompartiments bzw. des BWE zeigte sich eine so noch nicht beschriebene signifikante Dickenabnahme vom Termin 1 (10. Tag) auf Termin 2 (31.Tag), gefolgt von einer signifikanten Dickenzunahme von Termin 2 auf 3 (90. Tag), sodass bei Termin 3 schlussendlich wieder annähernd die Ausgangswerte erreicht wurden (BNC 0,51 cm; BWE 0,56 cm). Dieses Phänomen war sowohl beim BNC-Sublay als auch beim BWE auffällig. Beim konventionellen Sublay hingegen war die Zunahme von 2 auf 3 nicht vorhanden, es kam vielmehr zu einer weiteren leichten Abnahme. Die Werte der BNC-Tiere waren dabei deutlich höher als die Werte der Tiere mit konventionellen Netzen (0,42 – 0,48 cm), was in Anbetracht der unterschiedlichen Materialtextur naturgemäß eingeschränkt vergleichbar ist. Die Gründe für die beschriebenen Größenveränderungen liegen vermutlich zum Termin 1 in einer unmittelbar postoperativen Reaktion durch eine humorale, zellvermittelte Entzündung mit Begleitödem. Diese Größenzunahme bildet sich erst langsam zurück und erreicht dann nach ca. 30 Tagen einen Tiefpunkt. Die danach wieder einsetzende Dickenzunahme ist mutmaßlich Ausdruck einer Chronifizierung oder einer vermehrten Narbenbildung. Ein interessanter Ansatz wäre daher diese Zunahme auf zellulärer oder gar genomischer Ebene näher zu charakterisieren (Pascual et al. 2012, Pascual et al. 2008). Warum sich die Veränderung der Dicke bei den konventionellen Netzen nicht analog der von BNC entwickelt bleibt unklar. Wahrscheinlich ist aber hierfür die starke Wasserbindungskapazität von BNC ursächlich (s. u.). Weitere für

zukünftige Studien interessante Fragen sind zum einen die Frage nach dem genauen Zeitpunkt, wann ein „Steady State“ der Zunahme erreicht ist und welche zelluläre entzündliche Aktivität zu diesem Zeitpunkt herrscht. Zum anderen ist die Frage von Bedeutung, inwieweit die Umbauvorgänge mit dem Verlauf der mechanischen Stabilität korrelieren. Diese Korrelation im zeitlichen Verlauf zu betrachten würde einen interessanten Ansatz darstellen.

Die Dicke der BNC beim BWE lag erstaunlicherweise überproportional zum Unterschied der Ausgangsvliese sehr viel höher als beim Sublay und das, obwohl beim Sublay-Modell der sehr viel dickere Weichteilmantel mit gemessen wurde. Der Grund hierfür bleibt spekulativ. Eventuell steht er in Verbindung mit der Transportkapazität des Peritoneums. Beim Sublay liegt das BNC-Patch nur der peritonealen Rückseite an und ist zusätzlich durch das, allerdings dünne, hintere Faszienblatt abgeschirmt. Beim BWE hingegen ist das BNC-Patch mit seiner gesamten Fläche der mesothelialen Seite des Peritoneums ausgesetzt und erlangt direkten Kontakt zur Bauchhöhle. In jedem Fall ist die Dickenzunahme in beiden Fällen bedingt durch die hohe Wasserbindungskapazität von BNC (Klemm et al. 2011), die im Falle des BWE aufgrund der höheren peritonealen Transportkapazität deutlicher ausfällt. Diese Hydrogelbildung beeinflusst aller Wahrscheinlichkeit nach, wie auch in In-vitro-Analysen gezeigt, direkt die mechanische Stabilität des BNC-Patches (Klemm et al. 2001). In welchem Ausmaß und damit mit welcher Relevanz dies stattfindet bleibt offen.

Um die Methode der Ultraschall-Untersuchung für zukünftige Untersuchungen noch zu verbessern, könnte die Verwendung eines für Kleintiere spezifischen Geräts mit höherer Ortsauflösung in Erwägung gezogen werden. Ein bedeutender Nachteil der Methode, neben zahlreichen Vorteilen, besteht darin, dass die Tiere für die Untersuchungen erneut in Narkose versetzt werden mussten. Dennoch hat sich auch diese Methode bewährt und kann für ähnliche Ansätze empfohlen werden, da potentielle morphologische Veränderungen auf diese Weise sehr gut mit funktionellen, zellulären und humoralen Parametern korreliert werden können.

Die Materialschrumpfung der BNC lag im Sublay-Modell bei durchschnittlich ca. 15 %. Bewusst wurde hier zur besseren Schrumpfungs- und Adhäsionsbeurteilung auf eine Fixierung des Patches verzichtet. Im BWE-Modell wurde eine 10 prozentige Längenschrumpfung bzw. eine 17 prozentige Flächenschrumpfung gemessen. Diese doch erheblichen Schrumpfungen könnten ähnlich der Problematik bei PP-Netzen, ein relevantes Problem darstellen und sollten in weiteren Untersuchungen unbedingt Beachtung finden.

Bei der makroskopischen Gewebeintegration zeigten sich alle Implantate voll integriert und so ließen sich keinerlei Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen feststellen. Zum Zeitpunkt des Versuchendes waren keine Serome oder andere lokalen Entzündungszeichen vorhanden.

Um die Adhäsionsanalysen möglichst differenziert und standardisiert beurteilen zu können, bedienten wir uns eines modifizierten Vandendael-Scores. Diese in Kapitel 3.3.5 beschriebene Methode bewährte sich für unsere Zwecke und kann uneingeschränkt für vergleichbare Studien empfohlen werden (Petter-Puchner et al. 2008b). Bei den Sublay-Versuchen zeigten sich mild ausgeprägte Adhäsionen, die keine Unterschiede im Vergleich zu den konventionellen Netzen aufwiesen. Daher kann für BNC von einer guten klinischen Verträglichkeit ausgegangen werden. Beim Bauchwandersatz wurde der Score mit durchschnittlich 6 (von maximal 12 möglichen Punkten) bewertet, also deutlich höher als beim Sublay. Ein Vergleich der beiden Modelle ist allerdings aufgrund der anatomisch völlig unterschiedlichen Situation mit der fehlenden peritonealen Bedeckung beim BWE keinesfalls sinnvoll. Im Literaturvergleich allerdings zeigten sich für den BWE gleiche oder sogar bessere Werte als die Werte etablierter IPOM-Netze (Gruber-Blum et al. 2011).

Mechanische Analysen sind häufig Bestandteil tierexperimenteller Studien in der Hernienchirurgie. Es gibt kaum eine Standardisierung dieser Analysen, daher sind die Ergebnisse häufig nicht direkt oder teils nur mit Einschränkungen vergleichbar. Ein Beispiel für angewandte Verfahren sind Berstungsdruckanalysen durch pneumatischen Stress (Petter-Puchner et al. 2005). Im Rahmen von Festigkeitsanalysen von Fibrinklebern wurden Stempeldruckmessungen angewendet (Schug-Pass et al. 2009, Schug-Pass et al. 2010), mit denen die Kraft bis zum Netzausriss in einem für diese Bedingungen standardisierten Modell unter Laborbedingungen bestimmt werden können. Ein weiteres Beispiel ist der „trouser tear test“, bei dem nach definiert gesetzten Einrissen zwischen den Faserschichten des Faszienschlusses die benötigte Kraft zum Auseinanderreißen beider Anteile bestimmt wurde (Kim et al. 2001). Im Gegensatz zu diesen Konzepten der mechanischen Testungen, werden in der überwiegenden Mehrzahl der Studien Standard-Zugprüfmaschinen aus der Textilindustrie verwendet (Bellon et al. 2009, Greenawalt et al. 2000, Pascual et al. 2008). Am besten geeignet für die Analyse von IPOM-, Onlay- oder Sublay-Modellen ist unserer Ansicht nach die Methode, die Burger et al. im Rahmen einer Studie zur Evaluation neuer Netz-Prothesen bei ventralen Bauchwandhernien im Rattenmodell beschrieben haben und an der wir uns methodisch orientiert haben (Kapitel 3.3.6, (Burger et al. 2006)). Das große Problem bei allen

mechanischen Analysen liegt in der deutlichen Unschärfe der Messung, die sich zwangsläufig aus der nicht ausreichend präzisen Probenpräparation ergibt. Aus diesem Grund entschieden wir uns für die Messung des ganzen Kompartiments, da der Zuschnitt so relativ genau und das Einspannen standardisierter erfolgen können. Das Herauspräparieren des implantierten, eingewachsenen Netzes würde demgegenüber eine Vervielfachung der dadurch bedingten Artefakte bedeuten.

Als einer der Hauptbefunde unserer mechanischen Analysen zeigte sich eine Reißkraft von BNC im Sublay-Modell, die im unteren Bereich der Reißkraft konventioneller Netze lag. Insgesamt hat nach der dreimonatigen Implantationszeit sowohl die Reißfestigkeit als auch die Dehnbarkeit des Materials „BNC“ deutlich zugenommen. Dabei ist das Ergebnis durch die Testung des gesamten Kompartiments weniger aussagekräftig in Bezug auf die alleinigen Veränderungen im Material, sondern es lässt vielmehr auf ein mechanisch gutes Ergebnis einer Hernienversorgung mit BNC schließen. Außerdem zeigte sich beim Bauchwandersatz ein Reißkraftverlust von ca. 25 % im Vergleich zu nativer BNC. Die Dehnbarkeit stieg in beiden Modellen deutlich an. Im Vergleich zu konventionellen Netzen war sie beim BNC-Sublay leicht erhöht, was für die Fähigkeit spricht, eher als konventionelle Netze, wie autologes Gewebe zu reagieren. Da diese Werte sich allerdings deutlich im supraphysiologischen Bereich befinden, dürfen sie nicht überbewertet werden. Es stellt sich die Frage, inwieweit sie für das funktionelle System Bauchwand überhaupt relevant sind.

Insbesondere der deutliche Reißkraftverlust im BWE-Modell von ca. 25 % nach 3 Monaten offenbart, dass die Veränderungen des Materials im lebenden Organismus die Reißfestigkeit verringern. Offen bleibt die Frage, ob der gemessene 25-prozentige Verlust bereits das Maximum darstellt oder ob sich dieser Wert noch einem späteren Maximum annähern könnte. Dem sollte in weiteren Untersuchungen nachgegangen werden, da sich hieraus eine Einschränkung für einen potentiellen klinischen Einsatz ergeben könnte.

Für zukünftige Untersuchungen könnte sich die von uns angewendete Methode durch einige Modifikationen weiter verbessern lassen. So könnte das Probengewicht durch Bezug der Messwerte auf die Masse der Probe als Korrekturfaktor eingeführt werden. Außerdem wäre eine stärkere Homogenisierung des Probenzuschnitts, beispielsweise durch eine industrielle Stanze, sinnvoll und wünschenswert.

Zur histologischen Analyse wurden in dieser Studie neben den klassischen Färbungen aus der experimentellen Literatur (HE und EvG) zusätzliche, weniger gebräuchliche und teilweise neue Methoden (PAS, BrdU, ASDCL) für eine möglichst umfassende Beurteilung eingesetzt. Im



Vordergrund der Analysen stand die morphologische Beschreibung der Materialinkorporation sowie der durch das Material verursachten Entzündungsreaktion. Der histiozytäre Randsaum ist beim BNC-Sublay im Vergleich zum konventionellen Sublay deutlich weniger ausgeprägt, was nicht zuletzt durch seine geringere Materialoberfläche bedingt ist. In Randbereichen zeigt er sich betont. Morphologisch wird das Material nicht durchbaut, sondern vielmehr eingescheidet. Bei den Schnitten aus den Bauchwandersatz-Versuchen liegt das Peritoneum dorsal dem BNC direkt auf, d. h. es wurde im Rahmen des Einheilungsprozesses von der Peripherie her mit Neoperitoneum bedeckt. Auch hier wird das Material nicht durchbaut, sondern von der Peripherie her eingescheidet. Histiozytäre Zellnester und bindegewebige Ausläufer finden sich hier lediglich in den Randbereichen sowie an Faltungszonen und Defektstellen der Materialoberfläche. Diese Befunde stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen von Falcao et al., die eine fehlende bindegewebige Infiltration beschreiben (Falcao et al. 2008b, Falcao et al. 2008a). Das dort eingesetzte Zoogloea-BNC weist allerdings wie oben erwähnt eine deutlich geringere Porengröße auf, was vermutlich ursächlich dafür ist. Mit den Ergebnissen von Helenius et al. stehen unsere Befunde dagegen in Einklang. Um die Biokompatibilität von BNC zu untersuchen, wurden in deren Studie bei 21 Ratten 2 cm lange Hautschnitte auf dem Rücken durchgeführt und anschließend 4 subkutane Taschen gebildet, in die BNC-Implantate ( $10 \times 10 \times 3 \text{ mm}^3$ ) ohne Fixierung eingelegt wurden. Zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten wurden jeweils sieben Tiere getötet und das Implantat mitsamt dem umliegenden Gewebe herausgeschnitten und histologisch bzw. immunhistochemisch untersucht. Hierbei wurde ebenfalls eine bindegewebige Infiltration beschrieben (Helenius et al. 2006). Für zukünftige Untersuchungen wäre eine nähere Charakterisierung dieser Infiltration sinnvoll, da sich dieser Parameter beispielsweise durch Perforationen im Material beeinflussen lassen könnte (s. u.). Das von uns implantierte BNC erweckt aus histomorphologischer Sicht insgesamt den Eindruck eines annähernd inerten Materials. Es scheint von sich aus keinerlei überschießende Entzündungsreaktionen im umliegenden Gewebe auszulösen. Die histiozytären Anteile sind rein auf die unmittelbare Kontaktfläche zum umliegenden Gewebe beschränkt, was im Gegensatz zur Netzstruktur eines aus Einzelfäden aufgebauten konventionellen Netzes der geringen Materialoberfläche zu verdanken sein dürfte. Die hohe innere Oberfläche bedingt zudem vermutlich eine schlechte Zugänglichkeit für Zellen, ähnlich der Situation bei PTFE. In Zonen verstärkter mechanischer Interaktion mit dem umliegenden Gewebe, wie den lateralen, medialen, kaudalen und kranialen Randbereichen, scheint es allerdings vermehrt dezente Entzündungsreaktionen zu verursachen.

Mit Hilfe der EvG-Färbung wurde das Ausmaß der Bindegewebsreaktion dargestellt. Auch hier stellte sich BNC als weitgehend inert dar. Analog zur HE-Färbung fielen im Sublay-Modell ebenfalls eine verstärkte histiozytäre Reaktion, eine vermehrte Neovaskularisation und eine stärkere kollagene Faserung in mechanisch stärker belasteten Zonen auf. Dies zeigte sich auch auf der der Muskulatur zugewandten Seite im Vergleich zur dem Peritoneum zugewandten. Elastische Fasern als Zeichen einer verstärkten Neovaskularisierung finden sich ebenfalls nur in Randbereichen und Knickstellen des Patches. Trotz dem Einwachsen von Zellnestern in diesen Bereichen fand auch hier keine Durchbauung in vollem Umfang statt.

In der ASDCL-Färbung zeigte sich bei der Untersuchung der Umgebung des BNC-Patches im Vergleich mit dem restlichen Gewebe auf ASDCL-positive Zellen weder ein Unterschied in der Dichte, noch in der Frequenz. Es gab daher keinerlei Hinweise auf ein noch akutes Entzündungsgeschehen im Zusammenhang mit BNC. Die PAS-Färbung zeigte keine mukoiden Einlagerungen und keinerlei Hinweise für Pilzinfektionen des Materials oder seiner Umgebung. In der BrdU-Färbung fand sich insgesamt eine verschwindend geringe Anzahl an proliferierenden Zellen und somit kein Hinweis für einen noch aktiven entzündlichen Prozess oder eine stattfindende Vernarbung. An den Patch-Enden wurden signifikant mehr BrdU-positive Zellen gezählt als in der Patch-Mitte. Dieser signifikante Unterschied im Vorhandensein proliferierender Zellen stützt die Hypothese, dass eine mechanische Mehrbelastung des Patches an den prädisponierten Stellen mit einer verstärkten entzündlichen Reaktion einhergeht.

Zur genaueren Charakterisierung der Entzündungsantwort wäre ein histologisches Monitoring der zellulär vermittelten Entzündungsantwort im zeitlichen Verlauf über verschiedene Versuchszeitpunkte ein denkbarer Ansatz für zukünftige Untersuchungen. Die Ethik und der Tierschutzgedanke gebieten hier allerdings Zurückhaltung, sofern eine andere Möglichkeit zur Klärung dieser Fragestellung besteht. Hier wären heute insbesondere genomische und molekularbiologische Ansätze zu diskutieren. V. a. die in Kapitel 1.4 beschriebenen Entzündungsmediatoren und hochregulierte Gene für inflammatorische Zytokine, Wachstumsfaktoren, extrazelluläre Matrix-Proteine und Zelladhäsionsmoleküle könnten hierfür durch PCR untersucht werden. Asarius et al. verwendeten bereits in einer Hernienstudie im Rattenmodell mRNS-Analysen. Mittels Real-time-PCR wurde ein Profil der Expression von 84 für die Angiogenese bedeutsamen Genen am Gewebe-Netz-Interface erstellt (Asarias et al. 2011).

Die fehlende zelluläre Durchbauung ließe sich vermutlich, analog zu anderen biologischen

Implantaten, durch Perforationen des Materials verbessern und kompensieren. Jenkins et al. konnten im Schweinemodell eine bessere Gewebeintegration von fenestrierter CPDM als Hernienimplantat (crosslinked porcine dermal matrix) im Vergleich zu nicht-fenestrierter zeigen (Jenkins et al. 2011). Auch die Modifikation der Porosität durch Porogene stellt in dieser Hinsicht eine interessante Option dar (Bäckdahl et al. 2008). Porogene sind Substanzen, die initial als Platzhalter in die Cellulose inkorporiert werden und anschließend, ohne die Grundstruktur von BNC zu stören, wieder entfernt werden können. Als derartige Porogene nutzen Bäckdahl et al. Kartoffelstärke und Paraffinwachs. Interessant sind v. a. auch die verschiedenen Möglichkeiten der chemischen Modifikation (Petersen und Gatenholm 2011). Beispiele für bereits erprobte Veränderungen sind in diesem Zusammenhang Imprägnierungen von BNC mit verzögert freigegebenen Medikamenten oder antimikrobiellen Substanzen (z. B. Silber) und antithrombotische Heparinbeschichtungen auf BNC (Wang et al. 2012, Diez et al. 2011, Berndt et al. 2013). Außerdem konnte durch Xyloglucan-RGD-Konjugate die Endothelzelladhäsion und -proliferation und somit die BNC-Zell-Interaktion verbessert werden, was v. a. eine Verbesserung für synthetische Gefäßprothesen aus BNC darstellt (Fink et al. 2011, Bodin et al. 2007a). Umfassende Möglichkeiten ergeben sich auch durch die Veresterung von Aminosäuren im Netzwerk von BNC. Hierdurch lassen sich z. B. die Zellmorphologie und -anhaftung steuern (Kalaskar et al. 2008). Durch eine Phosphorylierung und Behandlung mit Serum konnte auf BNC das Wachstum von Hydroxylapatit-Kristallen induziert werden, die dann wiederum die Adhäsion, Differenzierung und Proliferation von Osteoblasten induzierten (Hutmacher et al. 2007, Wan et al. 2007). Eine Acetylierung führt zu einer höheren Kristallinität und ebenso wie eine Sulfatierung zu einer höheren thermischen Stabilität. Lipophobes/hydrophobes BNC lässt sich durch Pentafluorobenzilylierung produzieren (Cunha et al. 2007, Habibi 2014). Abgesehen von den zahlreichen chemischen Modifikationen bieten auch die Bestrahlung und die Imprägnierung mit bioaktiven Molekülen weitere Möglichkeiten, die Materialeigenschaften von BNC zu beeinflussen (Petersen und Gatenholm 2011).

Aus diesen spezifisch anpassbaren Eigenschaften von BNC ergeben sich die zahlreichen möglichen und teilweise bereits untersuchten medizinischen Einsatzmöglichkeiten. Erprobt wurden beispielsweise bereits Tracheal- und Meniskusimplantate, Herzklappen, Knorpelersatz und -regeneration sowie die gerichtete Knochenregeneration und -matrix, der Ersatz von Urothelgewebe, die Besiedlung von Hautzellen und der Einsatz als Kunsthaut, Blutgefäßimplantate, Schutz von Nervenähten und der Ersatz von Ohrknorpel ((Feldmann et al. 2013, Kowalska-Ludwicka et al. 2013), Kapitel 1.6). Das am meisten erprobte Beispiel ist allerdings der Einsatz als Wundauflage für komplexe Wunden und Verbrennungswunden. Für

dieses Anwendungsgebiet sind u. a. mit einer hohen Exsudatretention, einem geringeren Wundschmerz, einer geringeren Infektionsrate und Vernarbung, einer schnelleren Reepithelialisierung und einer sehr guten Konturanpassung erhebliche Vorteile beschrieben (Petersen und Gatenholm 2011, Fu et al. 2013).

Obwohl sowohl BNC selbst als auch die in sein Potential gesetzte Zuversicht nicht neu sind, wird es in Praxis und Literatur noch unzureichend wahrgenommen und beschrieben. Die bereits publizierten Arbeiten und die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie zeigen die zahlreichen möglichen Anwendungen auf. Eine Besonderheit stellen hierbei die umfassenden Methoden der spezifischen Materialmodifikationen dar. Insbesondere durch sie bleibt mit Spannung zu erwarten, welche medizinisch und speziell chirurgisch interessanten Optionen sich hieraus noch ergeben werden.

## 6. Schlussfolgerungen

In der hier vorliegenden Pilotstudie konnte der mögliche Einsatz von bakteriell synthetisierter Nanocellulose (BNC) aus *Glyconacetobacter xylinus* sowohl als Hernienimplantat als auch als Bauchwandersatz erstmals unter Beweis gestellt werden. Die für beide Ansätze neu eingeführten Ratten-Modelle erwiesen sich als geeignet und können für ähnliche Studien empfohlen werden.

Makroskopisch zeigte sich eine gute Gewebeintegration, Wundheilungsstörungen und / oder Infektionen traten nicht auf. Bei 30 % der Sublay- und bei 33 % der BWE-Tiere bildeten sich vorübergehende Serome aus. Zur bildmorphologischen Beschreibung der Bauchdecke wurden am 10., 31. und 90. Tag postoperativ sonographische Kontrollen durchgeführt. Hier zeigte sich nach anfänglicher Abnahme der Kompartimentdicke eine anschließende Zunahme bis in den Bereich der Ausgangswerte. Dieses durch die hohe Wasserbindungskapazität bedingte Phänomen war im BWE-Modell deutlicher ausgeprägt als beim Sublay-Modell.

Das Material weist eine 15 %-ige Längsschrumpfung im Hernienversuch und eine 17 %-ige Flächenschrumpfung beim BWE auf. Adhäsionen zeigten sich im Sublay-Modell gering ausgeprägt und korrelierten mit denen konventioneller Netze. Beim Bauchwandersatz waren mäßige Adhäsionen (Grad II) auffindbar, die den günstigsten Befunden handelsüblicher beschichteter IPOM-Netze entsprechen. Der Vandendael-Score erwies sich als valides Instrument zur standardisierten Adhäsionsbeurteilung.

Ebenso wie die klinischen Parameter, bestätigten auch die histologischen Analysen dieser Studie die in anderen Studien attestierte gute Biokompatibilität von BNC. Das Material erweist sich auch in der vorliegenden Untersuchung als inert und zeigt ein PTFE-ähnliches, offensichtlich porendurchmesserabhängiges Einwachsverhalten ohne Durchbauung des Materials.

Die in den mechanischen Analysen erhobenen Werte korrelierten im Sublay-Modell mit denen von konventionellen Netzen. Beim BWE lag ein 25 %-iger Reißkraftverlust im Vergleich zu nativer BNC vor.

Insbesondere die Materialschrumpfung und der Reißkraftverlust müssen in künftigen Untersuchungen näher betrachtet und weiter charakterisiert werden, da sich hieraus Einschränkungen eines potentiellen klinischen Einsatzes ergeben könnten. Abgesehen davon erfüllt BNC größtenteils die Anforderungen an ein Hernienimplantat. Eine weitere klinisch-

experimentelle Evaluation des Materials ist daher auch in der Hernienforschung sinnvoll und durchaus erfolgversprechend. Bezogen auf das Material selbst ist hierbei die Evaluation der optimalen Dicke und eine weitere Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften vorrangig. Mögliche Materialmodifikationen bzw. Konformationsänderungen sind besonders hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften interessant.

Insgesamt stehen für BNC im Wesentlichen drei Fragenkomplexe in Bezug auf Hernien im Vordergrund: Erstens ein potentieller Einsatz als Defektdeckungsmaterial, zweitens ein Einsatz in der infizierten oder infektgefährdeten Situation und drittens, inwieweit potentielle Materialverbesserungen durch chemische oder andere herstellungsbedingte Modifikationen eine Verbesserung darstellen können. Um die Aussagekraft künftiger Studien noch zu erhöhen wäre eventuell eine größere Stichprobe ratsam. Außerdem empfiehlt sich, sofern nicht grundlegende Fragen eruiert werden sollen, hinsichtlich der klinisch-chirurgischen Relevanz und des Handlings gegebenenfalls ein Großtiermodell.

## 7. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Agrawal S, Shaw A, Soon Y. 2010. Single-port laparoscopic totally extraperitoneal inguinal hernia repair with the TriPort system: initial experience. *Surgical endoscopy*, 24 (4):952-956.
- Amid PK, Shulman AG, Lichtenstein IL, Hakakha M. 1994. Biomaterials for abdominal wall hernia surgery and principles of their applications. *Langenbecks Arch Chir*, 379 (3):168-171.
- Amid PK, Lichtenstein IL. 1997. Current assessment of Lichtenstein tension-free hernia repair. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizen*, 68 (10):959-964.
- Anderson JM, Miller KM. 1984. Biomaterial biocompatibility and the macrophage. *Biomaterials*, 5 (1):5-10.
- Andrade JD, Hlady V. 1987. Plasma protein adsorption: the big twelve. *Ann N Y Acad Sci*, 516:158-172.
- Anurov MV, Titkova SM, Shchegoleva NN, Mikhaleva LM, Tsitovich IG, Galushkina NV, Oettinger AP. 2008. Experimental study of the impact of the textile structure of mesh endoprostheses for the efficiency of reconstruction of the anterior abdominal wall. *Bull Exp Biol Med*, 145 (5):642-646.
- Asarias JR, Nguyen PT, Mings JR, Gehrich AP, Pierce LM. 2011. Influence of mesh materials on the expression of mediators involved in wound healing. *Journal of investigative surgery: the official journal of the Academy of Surgical Research*, 24 (2):87-98.
- Bäckdahl H, Esguerra M, Delbro D, Risberg B, Gatenholm P. 2008. Engineering microporosity in bacterial cellulose scaffolds. *J Tissue Eng Regen Med*, 2 (6):320-330.
- Bauer L GS, Siebert W, Hrsg. 2007. Autolog-heterologe Brustrekonstruktion mit dem Latissimus-dorsi-Lappen. *Plastische Operationen an der weiblichen Brust*, Zweite Aufl. München (Hans Marseille Verlag):S. 123-130.
- Bellon JM, Rodriguez M, Garcia-Honduvilla N, Gomez-Gil V, Pascual G, Bujan J. 2009. Comparing the behavior of different polypropylene meshes (heavy and lightweight) in an experimental model of ventral hernia repair. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 89 (2):448-455.
- Bellows CF, Shadduck PP, Helton WS, Fitzgibbons RJ. 2011. The design of an industry-sponsored randomized controlled trial to compare synthetic mesh versus biologic mesh for inguinal hernia repair. *Hernia: the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 15 (3):325-332.
- Benhidjeb T, Witzel K, Barlehner E, Stark M. 2007. The natural orifice surgery concept. Vision and rationale for a paradigm shift. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 78 (6):537-542.

- Benhidjeb T, Benecke C, Strik MW. 2008. Incisional hernia repair: sublay or intraperitoneal onlay mesh (IPOM)? *Zentralblatt für Chirurgie*, 133 (5):458-463.
- Berger D, Bientzle M, Muller A. 2002. Postoperative complications after laparoscopic incisional hernia repair. Incidence and treatment. *Surgical endoscopy*, 16 (12):1720-1723.
- Berger D. 2010. Laparoscopic IPOM technique. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 81 (3):211-215.
- Bernatchez SF, Parks PJ, Gibbons DF. 1996. Interaction of macrophages with fibrous materials in vitro. *Biomaterials*, 17 (21):2077-2086.
- Berndt S, Wesarg F, Wiegand C, Kralisch D, Muller FA. 2013. Antimicrobial porous hybrids consisting of bacterial nanocellulose and silver nanoparticles. *Cellulose*, 20 (2):771-783.
- Bhardwaj RS, Henze U, Klein B, Zwadlo-Klarwasser G, Klinge U, Mittermayer C, Klosterhalfen B. 1997. Monocyte-biomaterial interaction inducing phenotypic dynamics of monocytes: a possible role of monocyte subsets in biocompatibility. *J Mater Sci Mater Med*, 8 (12):737-742.
- Binnebosel M, Rosch R, Junge K, Flanagan TC, Schwab R, Schumpelick V, Klinge U. 2007. Biomechanical analyses of overlap and mesh dislocation in an incisional hernia model in vitro. *Surgery*, 142 (3):365-371.
- Binnebosel M, von Trotha KT, Jansen PL, Conze J, Neumann UP, Junge K. 2011. Biocompatibility of prosthetic meshes in abdominal surgery. *Semin Immunopathol*, 33 (3):235-243.
- Bittner R, Arregui ME, Bisgaard T, Dudai M, Ferzli GS, Fitzgibbons RJ, Fortelny RH, Klinge U, Kockerling F, Kuhry E, Kukleta J, Lomanto D, Misra MC, Montgomery A, Morales-Conde S, Reinpold W, Rosenberg J, Sauerland S, Schug-Pass C, Singh K, Timoney M, Weyhe D, Chowbey P. 2011. Guidelines for laparoscopic (TAPP) and endoscopic (TEP) treatment of inguinal hernia [International Endohernia Society (IEHS)]. *Surgical endoscopy*, 25 (9):2773-2843.
- Bittner R, Bingener-Casey J, Dietz U, Fabian M, Ferzli G, Fortelny R, Kockerling F, Kukleta J, Leblanc K, Lomanto D, Misra M, Morales-Conde S, Ramshaw B, Reinpold W, Rim S, Rohr M, Schrittwieser R, Simon T, Smietanski M, Stechemesser B, Timoney M, Chowbey P. 2014. Guidelines for laparoscopic treatment of ventral and incisional abdominal wall hernias (International Endohernia Society [IEHS])-Part III. *Surgical endoscopy*, 28 (2):380-404.
- Bodin A, Ahrenstedt L, Fink H, Brumer H, Risberg B, Gatenholm P. 2007a. Modification of nanocellulose with a xyloglucan-RGD conjugate enhances adhesion and proliferation of endothelial cells: implications for tissue engineering. *Biomacromolecules*, 8 (12):3697-3704.



- Bodin A, Concaro S, Brittberg M, Gatenholm P. 2007b. Bacterial cellulose as a potential meniscus implant. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 1 (5):406-408.
- Bodin A, Bharadwaj S, Wu SF, Gatenholm P, Atala A, Zhang YY. 2010. Tissue-engineered conduit using urine-derived stem cells seeded bacterial cellulose polymer in urinary reconstruction and diversion. *Biomaterials*, 31 (34):8889-8901.
- Bower CE, Love KM. 2011. Single incision laparoscopic ventral hernia repair. *JSLS*, 15 (2):165-168.
- Bringman S, Conze J, Cuccurullo D, Deprest J, Junge K, Klosterhalfen B, Parra-Davila E, Ramshaw B, Schumpelick V. 2010. Hernia repair: the search for ideal meshes. *Hernia: the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 14 (1):81-87.
- Brown AJ. 1886a. XIX.-The chemical action of pure cultivations of bacterium aceti. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 49 (0):172-187.
- Brown AJ. 1886b. XLIII.-On an acetic ferment which forms cellulose. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 49 (0):432-439.
- Brown EE, Zhang JW, Laborie MPG. 2011. Never-dried bacterial cellulose/fibrin composites: preparation, morphology and mechanical properties. *Cellulose*, 18 (3):631-641.
- Burger JW, Halm JA, Wijsmuller AR, ten Raa S, Jeekel J. 2006. Evaluation of new prosthetic meshes for ventral hernia repair. *Surg Endosc*, 20 (8):1320-1325.
- Butler CE, Burns NK, Campbell KT, Mathur AB, Jaffari MV, Rios CN. 2010. Comparison of cross-linked and non-cross-linked porcine acellular dermal matrices for ventral hernia repair. *Journal of the American College of Surgeons*, 211 (3):368-376.
- Chastan P. 2005. Tension-free inguinal hernia repair: a retrospective study of 3000 cases in one center. *International surgery*, 90 (1):48-52.
- Chung SD, Huang CY, Wang SM, Hung SF, Tsai YC, Chueh SC, Yu HJ. 2011. Laparoendoscopic single-site totally extraperitoneal adult inguinal hernia repair: initial 100 patients. *Surgical endoscopy*, 25 (11):3579-3583.
- Cobb WS, Kercher KW, Heniford BT. 2005. The argument for lightweight polypropylene mesh in hernia repair. *Surgical innovation*, 12 (1):63-69.
- Conze J, Rosch R, Klinge U, Weiss C, Anurov M, Titkova S, Oettinger A, Schumpelick V. 2004. Polypropylene in the intra-abdominal position: influence of pore size and surface area. *Hernia: the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 8 (4):365-372.
- Conze J, Binnebosel M, Junge K, Schumpelick V. 2010. [Incisional hernia - how do I do it? Standard surgical approach]. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen*

- Medizin, 81 (3):192-200.
- Costello CR, Bachman SL, Ramshaw BJ, Grant SA. 2007. Materials characterization of explanted polypropylene hernia meshes. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials*, 83 (1):44-49.
- Cumberland VH. 1952. A preliminary report on the use of prefabricated nylon weave in the repair of ventral hernia. *Med J Aust*, 1 (5):143-144.
- Cunha AG, Freire CSR, Silvestre AJD, Neto CP, Gandini A, Orblin E, Fardim P. 2007. Highly hydrophobic biopolymers prepared by the surface pentafluorobenzoylation of cellulose substrates. *Biomacromolecules*, 8 (4):1347-1352.
- Dayton MT, Buchele BA, Shirazi SS, Hunt LB. 1986. Use of an absorbable mesh to repair contaminated abdominal-wall defects. *Arch Surg*, 121 (8):954-960.
- Deeken CR, Abdo MS, Frisella MM, Matthews BD. 2011a. Physicomechanical evaluation of polypropylene, polyester, and polytetrafluoroethylene meshes for inguinal hernia repair. *Journal of the American College of Surgeons*, 212 (1):68-79.
- Deeken CR, Melman L, Jenkins ED, Greco SC, Frisella MM, Matthews BD. 2011b. Histologic and biomechanical evaluation of crosslinked and non-crosslinked biologic meshes in a porcine model of ventral incisional hernia repair. *Journal of the American College of Surgeons*, 212 (5):880-888.
- den Hartog D, Dur AH, Tuinebreijer WE, Kreis RW. 2008. Open surgical procedures for incisional hernias. *Cochrane Database Syst Rev*, (3):CD006438.
- Diez I, Eronen P, Osterberg M, Linder MB, Ikkala O, Ras RH. 2011. Functionalization of nanofibrillated cellulose with silver nanoclusters: fluorescence and antibacterial activity. *Macromol Biosci*, 11 (9):1185-1191.
- Drewa T, Galazka P, Prokurat A, Wolski Z, Sir J, Wysocka K, Czajkowski R. 2005. Abdominal wall repair using a biodegradable scaffold seeded with cells. *Journal of pediatric surgery*, 40 (2):317-321.
- Eisner L, Harder F. 1997. Incisional hernias. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 68 (4):304-309.
- El-Hayek KM, Chand B. 2010. Biologic prosthetic materials for hernia repairs. *J Long Term Eff Med Implants*, 20 (2):159-169.
- Emans PJ, Schreinemaker MH, Gijbels MJ, Beets GL, Greve JW, Koole LH, Bouvy ND. 2009. Polypropylene meshes to prevent abdominal herniation. Can stable coatings prevent adhesions in the long term? *Annals of biomedical engineering*, 37 (2):410-418.
- Erdmann J. 2013. Herstellung und In-Vitro-Testung einer Polyethylenimin-Beschichtung auf

- Herniennetzen [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Eriksen JR, Poornoroozy P, Jorgensen LN, Jacobsen B, Friis-Andersen HU, Rosenberg J. 2009. Pain, quality of life and recovery after laparoscopic ventral hernia repair. *Hernia: the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 13 (1):13-21.
- Esguerra M, Fink H, Laschke MW, Jeppsson A, Delbro D, Gatenholm P, Menger MD, Risberg B. 2010. Intravital fluorescent microscopic evaluation of bacterial cellulose as scaffold for vascular grafts. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 93A (1):140-149.
- Estour E. 2005. Tolerance of hernia repair meshes. Update on laparoscopic hernia repair. *Osp Ital Chir*, 11:298-305.
- Falcao SC, Coelho AR, Evencio Neto J. 2008a. Biomechanical evaluation of microbial cellulose (*Zoogloea* sp.) and expanded polytetrafluoroethylene membranes as implants in repair of produced abdominal wall defects in rats. *Acta cirurgica brasileira / Sociedade Brasileira para Desenvolvimento Pesquisa em Cirurgia*, 23 (2):184-191.
- Falcao SC, Evencio Neto J, Coelho AR. 2008b. Incorporation by host tissue of two biomaterials used as repair of defects produced in abdominal wall of rats. *Acta cirurgica brasileira / Sociedade Brasileira para Desenvolvimento Pesquisa em Cirurgia*, 23 (1):78-83.
- Feldmann EM, Sundberg JF, Bobbili B, Schwarz S, Gatenholm P, Rotter N. 2013. Description of a novel approach to engineer cartilage with porous bacterial nanocellulose for reconstruction of a human auricle. *Journal of Biomaterials Applications*, 28 (4):626-640.
- Fink H, Ahrenstedt L, Bodin A, Brumer H, Gatenholm P, Krettek A, Risberg B. 2011. Bacterial cellulose modified with xyloglucan bearing the adhesion peptide RGD promotes endothelial cell adhesion and metabolism - a promising modification for vascular grafts. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 5 (6):454-463.
- Forbes SS, Eskicioglu C, McLeod RS, Okrainec A. 2009. Meta-analysis of randomized controlled trials comparing open and laparoscopic ventral and incisional hernia repair with mesh. *The British journal of surgery*, 96 (8):851-858.
- Fu LN, Zhou P, Zhang SM, Yang G. 2013. Evaluation of bacterial nanocellulose-based uniform wound dressing for large area skin transplantation. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 33 (5):2995-3000.
- Fuchs KH, Breithaupt W. 2008. Natural orifice transluminal endoscopic surgery in future obesity treatment. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 79 (9):837-842.
- Gal I, Balint A, Szabo L. 2004. Results of laparoscopic repair of abdominal wall hernias using an ePTFE-polypropylene composite mesh. *Zentralblatt für Chirurgie*, 129 (2):92-95.
- Geckeler K, Wacker R, Martini F, Hack A, Aicher W. 2003. Enhanced biocompatibility for SAOS-2 osteosarcoma cells by surface coating with hydrophobic epoxy resins. *Cell*

- Physiol Biochem, 13 (3):155-164.
- Geissler B, Anthuber M. 2011. Inguinal and femoral hernia repair. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 82 (5):451-464; quiz 465.
- George CD, Ellis H. 1986. The results of incisional hernia repair: a twelve year review. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 68 (4):185-187.
- Ghadimi BM, Langer C, Becker H. 2002. The carcinogenic potential of biomaterials in hernia surgery. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 73 (8):833-837.
- Glasberg SB, Light D. 2012. AlloDerm and Strattice in breast reconstruction: a comparison and techniques for optimizing outcomes. *Plast Reconstr Surg*, 129 (6):1223-1233.
- Gonzalez R, Hill SJ, Mattar SG, Lin E, Ramshaw BJ, Smith CD, Wulkan ML. 2011. Absorbable versus nonabsorbable mesh repair of congenital diaphragmatic hernias in a growing animal model. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*, 21 (5):449-454.
- Granitzka S. 2007. Brustrekonstruktion mit alloplastischem Material. In: Granitzka S SW, Hrsg. *Plastische Operationen an der weiblichen Brust*. München: Hans Marseille Verlag, 79-103.
- Gray SH, Vick CC, Graham LA, Finan KR, Neumayer LA, Hawn MT. 2008. Risk of complications from enterotomy or unplanned bowel resection during elective hernia repair. *Arch Surg*, 143 (6):582-586.
- Greenawalt KE, Butler TJ, Rowe EA, Finneral AC, Garlick DS, Burns JW. 2000. Evaluation of sepramesh biosurgical composite in a rabbit hernia repair model. *J Surg Res*, 94 (2):92-98.
- Gruber-Blum S, Petter-Puchner AH, Brand J, Fortelny RH, Walder N, Oehlinger W, Koenig F, Redl H. 2011. Comparison of three separate antiadhesive barriers for intraperitoneal onlay mesh hernia repair in an experimental model. *The British journal of surgery*, 98 (3):442-449.
- Habibi Y. 2014. Key advances in the chemical modification of nanocelluloses. *Chemical Society Reviews*, 43 (5):1519-1542.
- Hagen ME, Wagner OJ, Swain PC, Patel A, Inan I, Pugin F, Fasel J, Morel P. 2009. Transrectal natural orifice transluminal endoscopic surgery for umbilical hernia repair in a human cadaver (with video). *Gastrointest Endosc*, 69 (6):e53-54.
- Halm JA, de Wall LL, Steyerberg EW, Jeekel J, Lange JF. 2007. Intraperitoneal polypropylene mesh hernia repair complicates subsequent abdominal surgery. *World journal of surgery*, 31 (2):423-429; discussion 430.

- Hamer-Hodges DW, Scott NB. 1985. Surgeon's workshop. Replacement of an abdominal wall defect using expanded PTFE sheet (Gore-tex). *J R Coll Surg Edinb*, 30 (1):65-67.
- Hartel W BH. 1999. Die sozioökonomischen Folgen von Bauchnarbenbrüchen. *Deutsche Gesellschaft für Chirurgie – Mitteilungen*, 5: 343–346.
- Harth KC, Rosen MJ. 2009. Major complications associated with xenograft biologic mesh implantation in abdominal wall reconstruction. *Surgical innovation*, 16 (4):324-329.
- Harth KC, Broome AM, Jacobs MR, Blatnik JA, Zeinali F, Bajaksouzian S, Rosen MJ. 2011. Bacterial clearance of biologic grafts used in hernia repair: an experimental study. *Surg Endosc*, 25 (7):2224-2229.
- Helenius G, Backdahl H, Bodin A, Nannmark U, Gatenholm P, Risberg B. 2006. In vivo biocompatibility of bacterial cellulose. *J Biomed Mater Res A*, 76 (2):431-438.
- Hoer J, Roesel C, Schachtrupp A, Tons C. 2008. Hernia recurrence after laparotomy: how to close an incised light-weight mesh? *Expert Rev Med Devices*, 5 (6):687-689.
- Höer J FL, Schachtrupp A. . 2011. Bauchdeckenverschluss und Narbenhernienprävention – Was braucht die Chirurgie? *Zentralbl Chir*, 136(1):42-49.
- Höfling HM. 2006. Leichtgewichtige großporige Hybridnetze aus Polypropylen und Monocryl als individuelle Basispolymerkonstruktion für Implantate zur Hernienreparation: eine tierexperimentelle Studie [Dissertation]. Münster: Westfälische Wilhelmsuniversität.
- Hohlbach G, Meffert R. 1997. Wound rupture--incisional hernia. *Zentralblatt für Chirurgie*, 122 (3):190-192.
- Hollinsky C, Sandberg S, Koch T, Seidler S. 2008. Biomechanical properties of lightweight versus heavyweight meshes for laparoscopic inguinal hernia repair and their impact on recurrence rates. *Surgical endoscopy*, 22 (12):2679-2685.
- Hughes LE. 1987. The results of incisional hernia repair: a twelve year review. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 69 (1):40-42.
- Hutmacher DW, Schantz JT, Lam CX, Tan KC, Lim TC. 2007. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J Tissue Eng Regen Med*, 1 (4):245-260.
- Jacob DA, Schug-Pass C, Sommerer F, Tannapfel A, Lippert H, Kockerling F. 2012. Comparison of a lightweight polypropylene mesh (Optilene(R) LP) and a large-pore knitted PTFE mesh (GORE(R) INFINIT(R) mesh)--Biocompatibility in a standardized endoscopic extraperitoneal hernia model. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie*, 397 (2):283-289.
- James NL, Poole-Warren LA, Schindhelm K, Milthorpe BK, Mitchell RM, Mitchell RE,

- Howlett CR. 1991. Comparative evaluation of treated bovine pericardium as a xenograft for hernia repair. *Biomaterials*, 12 (9):801-809.
- Jenkins ED, Melman L, Deeken CR, Greco SC, Frisella MM, Matthews BD. 2011. Biomechanical and histologic evaluation of fenestrated and nonfenestrated biologic mesh in a porcine model of ventral hernia repair. *Journal of the American College of Surgeons*, 212 (3):327-339.
- Jenkins JT, O'Dwyer PJ. 2008. Inguinal hernias. *BMJ*, 336 (7638):269-272.
- Jin J, Schomisch S, Rosen MJ. 2009. In vitro evaluation of the permeability of prosthetic meshes as the possible cause of postoperative seroma formation. *Surgical innovation*, 16 (2):129-133.
- Junge K, Klinge U, Rosch R, Klosterhalfen B, Schumpelick V. 2002. Functional and morphologic properties of a modified mesh for inguinal hernia repair. *World journal of surgery*, 26 (12):1472-1480.
- Junge K, Binnebosel M, von Trotha KT, Rosch R, Klinge U, Neumann UP, Lynen Jansen P. 2012. Mesh biocompatibility: effects of cellular inflammation and tissue remodelling. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie*, 397 (2):255-270.
- Kalaskar DM, Gough JE, Ulijn RV, Sampson WW, Scurr DJ, Rutten FJ, Alexander MR, Merry CLR, Eichhorn SJ. 2008. Controlling cell morphology on amino acid-modified cellulose. *Soft Matter*, 4 (5):1059-1065.
- Kantsevov SV, Dray X, Shin EJ, Buscaglia JM, Magno P, Assumpcao L, Marohn MR, Redan J, Giday SA, Schweitzer MA. 2009. Transgastric ventral hernia repair: a controlled study in a live porcine model (with videos). *Gastrointest Endosc*, 69 (1):102-107.
- Kapischke M, Schulz T, Schipper T, Tensfeldt J, Caliebe A. 2008. Open versus laparoscopic incisional hernia repair: something different from a meta-analysis. *Surgical endoscopy*, 22 (10):2251-2260.
- Kim HL, LaBarbera MC, Patel RV, Cromie WJ, Bales GT. 2001. Comparison of the durability of cadaveric and autologous fascia using an in vivo model. *Urology*, 58 (5):800-804.
- Kingsnorth A. 2006. The management of incisional hernia. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 88 (3):252-260.
- Klemm D, Schumann D, Udhardt U, Marsch S. 2001. Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in Polymer Science*, 26 (9):1561-1603.
- Klemm D, Schumann D, Kramer F, Heßler N, Koth D, Sultanova B. 2009. Nanocellulose Materials – Different Cellulose, Different Functionality. *Macromolecular Symposia*, 280 (1):60-71.

- Klemm D, Kramer F, Moritz S, Lindstrom T, Ankerfors M, Gray D, Dorris A. 2011. Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie*, 50 (24):5438-5466.
- Klinge U, Prescher A, Klosterhalfen B, Schumpelick V. 1997. Development and pathophysiology of abdominal wall defects. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 68 (4):293-303.
- Klinge U, Klosterhalfen B, Muller M, Schumpelick V. 1999. Foreign body reaction to meshes used for the repair of abdominal wall hernias. *Eur J Surg*, 165 (7):665-673.
- Klinge U, Junge K, Spellerberg B, Piroth C, Klosterhalfen B, Schumpelick V. 2002a. Do multifilament alloplastic meshes increase the infection rate? Analysis of the polymeric surface, the bacteria adherence, and the in vivo consequences in a rat model. *Journal of biomedical materials research*, 63 (6):765-771.
- Klinge U, Klosterhalfen B, Birkenhauer V, Junge K, Conze J, Schumpelick V. 2002b. Impact of polymer pore size on the interface scar formation in a rat model. *The Journal of surgical research*, 103 (2):208-214.
- Klinge U, Klosterhalfen B, Ottinger AP, Junge K, Schumpelick V. 2002c. PVDF as a new polymer for the construction of surgical meshes. *Biomaterials*, 23 (16):3487-3493.
- Klink CD, Binnebosel M, Kaemmer D, Schachtrupp A, Fiebeler A, Anurov M, Schumpelick V, Klinge U. 2011. Comet-tail-like inflammatory infiltrate to polymer filaments develops in tension-free conditions. *European surgical research Europäische chirurgische Forschung Recherches chirurgicales europeennes*, 46 (2):73-81.
- Klosterhalfen B, Klinge U, Schumpelick V. 1998. Functional and morphological evaluation of different polypropylene-mesh modifications for abdominal wall repair. *Biomaterials*, 19 (24):2235-2246.
- Klosterhalfen B, Klinge U, Hermanns B, Schumpelick V. 2000. Pathology of traditional surgical nets for hernia repair after long-term implantation in humans. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 71 (1):43-51.
- Klosterhalfen B, Junge K, Hermanns B, Klinge U. 2002. Influence of implantation interval on the long-term biocompatibility of surgical mesh. *The British journal of surgery*, 89 (8):1043-1048.
- Klosterhalfen B, Junge K, Klinge U. 2005. The lightweight and large porous mesh concept for hernia repair. *Expert Rev Med Devices*, 2 (1):103-117.
- Köhler G, Luketina RR, Koch OO, Emmanuel K. 2014. Die Komponentenseparation zum Verschluss komplexer Bauchwandhernien: Entwicklung einer Technik von 1990 bis heute. *Zentralbl Chir, (EFirst)*.
- Korenkov M, Paul A, Sauerland S, Neugebauer E, Arndt M, Chevrel JP, Corcione F, Fingerhut

- A, Flament JB, Kux M, Matzinger A, Myrvold HE, Rath AM, Simmermacher RK. 2001. Classification and surgical treatment of incisional hernia. Results of an experts' meeting. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie*, 386 (1):65-73.
- Kowalska-Ludwicka K, Cala J, Grobelski B, Sygut D, Jesionek-Kupnicka D, Kolodziejczyk M, Bielecki S, Pasięka Z. 2013. Modified bacterial cellulose tubes for regeneration of damaged peripheral nerves. *Archives of Medical Science*, 9 (3):527-534.
- Kralisch D, Hessler N, Klemm D, Erdmann R, Schmidt W. 2010. White biotechnology for cellulose manufacturing--the HoLiR concept. *Biotechnology and bioengineering*, 105 (4):740-747.
- Krause H, Potzsch S, Hass HJ, Gerloff C, Jaekel A, Avenarius S, Kroker S. 2009. Congenital abdominal wall defects--an analysis of prevalence and operative management by means of gastroschisis and omphalocele. *Zentralblatt für Chirurgie*, 134 (6):524-531.
- Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. 1996. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci*, 16 (6):2027-2033.
- Lakard S, Herlem G, Valles-Villareal N, Michel G, Proppe A, Gharbi T, Fahys B. 2005. Culture of neural cells on polymers coated surfaces for biosensor applications. *Biosens Bioelectron*, 20 (10):1946-1954.
- Langer C. BH, Liersch T. 2007. Bauchwandhernien. *Allgemein- und Viszeralchirurgie* up2date. Stuttgart · New York: Georg Thieme Verlag KG 217-234.
- Leber GE, Garb JL, Alexander AI, Reed WP. 1998. Long-term complications associated with prosthetic repair of incisional hernias. *Arch Surg*, 133 (4):378-382.
- LeBlanc KA, Booth WV. 1993. Laparoscopic repair of incisional abdominal hernias using expanded polytetrafluoroethylene: preliminary findings. *Surg Laparosc Endosc*, 3 (1):39-41.
- Makisalo SE. 1989. Induction of connective tissue by various alloplastic materials: an experimental study in rats. *Biomaterials*, 10 (7):499-502.
- Mann S, Blinman TA, Douglas Wilson R. 2008. Prenatal and postnatal management of omphalocele. *Prenat Diagn*, 28 (7):626-632.
- Martson M, Viljanto J, Hurme T, Laippala P, Saukko P. 1999. Is cellulose sponge degradable or stable as implantation material? An in vivo subcutaneous study in the rat. *Biomaterials*, 20 (21):1989-1995.
- Matthews BD, Pratt BL, Pollinger HS, Backus CL, Kercher KW, Sing RF, Heniford BT. 2003. Assessment of adhesion formation to intra-abdominal polypropylene mesh and polytetrafluoroethylene mesh. *J Surg Res*, 114 (2):126-132.



- Matthews BD, Mostafa G, Carbonell AM, Joels CS, Kercher KW, Austin C, Norton HJ, Heniford BT. 2005. Evaluation of adhesion formation and host tissue response to intra-abdominal polytetrafluoroethylene mesh and composite prosthetic mesh. *J Surg Res*, 123 (2):227-234.
- Mavros M, Athanasiou S, Alexiou V, Mitsikostas P, Peppas G, Falagas M. 2011. Risk Factors for Mesh-related Infections After Hernia Repair Surgery: A Meta-analysis of Cohort Studies. *World Journal of Surgery*, 35 (11):2389-2398.
- Meyer T, Seifert A, Meyer B, Ulrichs K, Germer CT. 2010. PAUL procedure. A new biocompatible concept for the therapy of congenital abdominal wall defects. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 81 (3):236-242.
- Miedema BW, Bachman SL, Sporn E, Astudillo JA, Thaler K. 2009. Transgastric placement of biologic mesh to the anterior abdominal wall. *Surgical endoscopy*, 23 (6):1212-1218.
- Millikan KW, Baptista M, Amin B, Deziel DJ, Doolas A. 2003. Intraperitoneal underlay ventral hernia repair utilizing bilayer expanded polytetrafluoroethylene and polypropylene mesh. *The American surgeon*, 69 (4):287-291; discussion 291-292.
- Mischinger HJ, Kornprat P, Werkgartner G, El Shabrawi A, Spendel S. 2010. Abdominal wall closure by incisional hernia and herniation after laparostoma. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 81 (3):201-210.
- Misra MC, Bansal VK, Kulkarni MP, Pawar DK. 2006. Comparison of laparoscopic and open repair of incisional and primary ventral hernia: results of a prospective randomized study. *Surgical endoscopy*, 20 (12):1839-1845.
- Morris-Stiff GJ, Hughes LE. 1998. The outcomes of nonabsorbable mesh placed within the abdominal cavity: literature review and clinical experience. *Journal of the American College of Surgeons*, 186 (3):352-367.
- Mueller CK, Thorwarth M, Schmidt M, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S. 2011. Comparative analysis of osseointegration of titanium implants with acid-etched surfaces and different biomolecular coatings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 112 (6):726-736.
- Niepel MS, Peschel D, Sisquella X, Planell JA, Groth T. 2009. pH-dependent modulation of fibroblast adhesion on multilayers composed of poly(ethylene imine) and heparin. *Biomaterials*, 30 (28):4939-4947.
- Nowakowski RS, Lewin SB, Miller MW. 1989. Bromodeoxyuridine immunohistochemical determination of the lengths of the cell cycle and the DNA-synthetic phase for an anatomically defined population. *J Neurocytol*, 18 (3):311-318.
- Orenstein SB, Saberski ER, Klueh U, Kreutzer DL, Novitsky YW. 2010. Effects of mast cell modulation on early host response to implanted synthetic meshes. *Hernia: the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 14 (5):511-516.

- Orenstein SB, Saberski ER, Kreutzer DL, Novitsky YW. 2012. Comparative analysis of histopathologic effects of synthetic meshes based on material, weight, and pore size in mice. *The Journal of surgical research*, 176 (2):423-429.
- Otto S. 2006. Epidemiologische und sozioökonomische Aspekte der Hernienchirurgie. In: Ritz J-P, Buhr H, Hrsg. *Hernienchirurgie*. Springer Berlin Heidelberg, 3-8.
- Ozog Y, Konstantinovic ML, Verschueren S, Spelzini F, De Ridder D, Deprest J. 2009. Experimental comparison of abdominal wall repair using different methods of enhancement by small intestinal submucosa graft. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*, 20 (4):435-441.
- Panerari AD, Costa HO, Souza FC, Castro M, Silva L, Sousa Neto OM. 2008. Tracheal inflammatory response to bacterial cellulose dressing after surgical scarification in rabbits. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 74 (4):512-522.
- Pantelis D, Jafari A, Vilz TO, Schafer N, Kalff JC, Kaminski M. 2012. Abdominal wall components separation method for closure of complicated abdominal hernias. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizen*, 83 (6):555-560.
- Pascual G, Rodriguez M, Gomez-Gil V, Garcia-Honduvilla N, Bujan J, Bellon JM. 2008. Early tissue incorporation and collagen deposition in lightweight polypropylene meshes: bioassay in an experimental model of ventral hernia. *Surgery*, 144 (3):427-435.
- Pascual G, Rodriguez M, Sotomayor S, Perez-Kohler B, Bellon JM. 2012. Inflammatory reaction and neotissue maturation in the early host tissue incorporation of polypropylene prostheses. *Hernia*, 16 (6):697-707.
- Petersen N, Gatenholm P. 2011. Bacterial cellulose-based materials and medical devices: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*, 91 (5):1277-1286.
- Petter-Puchner AH, Fortelny R, Mittermayr R, Ohlinger W, Redl H. 2005. Fibrin sealing versus stapling of hernia meshes in an onlay model in the rat. *Hernia*, 9 (4):322-329.
- Petter-Puchner AH, Fortelny RH, Walder N, Mittermayr R, Ohlinger W, van Griensven M, Redl H. 2008a. Adverse effects associated with the use of porcine cross-linked collagen implants in an experimental model of incisional hernia repair. *J Surg Res*, 145 (1):105-110.
- Petter-Puchner AH, Walder N, Redl H, Schwab R, Ohlinger W, Gruber-Blum S, Fortelny RH. 2008b. Fibrin sealant (Tissucol) enhances tissue integration of condensed polytetrafluoroethylene meshes and reduces early adhesion formation in experimental intraabdominal peritoneal onlay mesh repair. *J Surg Res*, 150 (2):190-195.
- Petter-Puchner AH, Fortelny RH, Mika K, Hennerbichler S, Redl H, Gabriel C. 2011a. Human vital amniotic membrane reduces adhesions in experimental intraperitoneal onlay mesh repair. *Surg Endosc*, 25 (7):2125-2131.

- Petter-Puchner AH, Fortelny RH, Silic K, Brand J, Gruber-Blum S, Redl H. 2011b. Biologic hernia implants in experimental intraperitoneal onlay mesh plasty repair: the impact of proprietary collagen processing methods and fibrin sealant application on tissue integration. *Surg Endosc*, 25 (10):3245-3252.
- Pierce RA, Spitler JA, Frisella MM, Matthews BD, Brunt LM. 2007. Pooled data analysis of laparoscopic vs. open ventral hernia repair: 14 years of patient data accrual. *Surgical endoscopy*, 21 (3):378-386.
- Preiss A. 2008. Gentamicinbeschichtung von Polyvinylidenfluorid-Netzmaterialien zur Infektionsprophylaxe bei Hernien-Reparationen [Dissertation]. Aachen: Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule.
- Ramirez OM, Ruas E, Dellon AL. 1990. "Components separation" method for closure of abdominal-wall defects: an anatomic and clinical study. *Plast Reconstr Surg*, 86 (3):519-526.
- Rauchfuss F, Bader RD, Dittmar Y, Schultze-Mosgau S, Settmacher U, Scheuerlein H. 2012. The latissimus dorsi myocutaneous free flap--a salvage option for abdominal wall reconstruction in complex incisional hernias. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, 44 (2):93-96.
- Reinhold W. 2008. Aktuelle Entwicklungen der Hernienchirurgie. *Hamburger Abendbl*, 10:12-17.
- Ritz J-PB, HJ. 2006. Hernienchirurgie. Klinische Strategien und perioperatives Management. Springer Berlin Heidelberg.
- Roohk HV, Pick J, Hill R, Hung E, Bartlett RH. 1976. Kinetics of fibrinogen and platelet adherence to biomaterials. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 22:1-8.
- Rutkow IM. 2003. Demographic and socioeconomic aspects of hernia repair in the United States in 2003. *Surgical Clinics of North America*, 83 (5):1045-1051.
- Sachs M, Damm M, Encke A. 1997. Historical evolution of inguinal hernia repair. *World journal of surgery*, 21 (2):218-223.
- Sajid MS, Bokhari SA, Mallick AS, Cheek E, Baig MK. 2009. Laparoscopic versus open repair of incisional/ventral hernia: a meta-analysis. *American journal of surgery*, 197 (1):64-72.
- Sandor M, Xu H, Connor J, Lombardi J, Harper JR, Silverman RP, McQuillan DJ. 2008. Host response to implanted porcine-derived biologic materials in a primate model of abdominal wall repair. *Tissue engineering Part A*, 14 (12):2021-2031.
- Scales JT. 1953. Tissue reactions to synthetic materials. *Proc R Soc Med*, 46 (8):647-652.

- Schantz JT BA, Machens HG. 2008. Tissue Engineering. Allgemein- und Viszeralchirurgie up2date, 2(5) 367-380.
- Schaudienst CB. 2010. Kosten- und Risikoanalyse des intraperitonealen Onlay-Mesh (IPOM) versus der Sublay-Technik in der Hernienchirurgie [Dissertation]. Bonn: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität.
- Scheidbach H. 2003. Die total endoskopische präperitoneale Patchplastik (TEP) und der prothetische Einsatz von Polypropylen. Experimentelle und klinische Ergebnisse [Habilitation]. Magdeburg: Otto-von-Guericke-Universität.
- Scheidbach H, Tamme C, Tannapfel A, Lippert H, Kockerling F. 2004. In vivo studies comparing the biocompatibility of various polypropylene meshes and their handling properties during endoscopic total extraperitoneal (TEP) patchplasty: an experimental study in pigs. Surgical endoscopy, 18 (2):211-220.
- Schmidbauer S, Ladurner R, Hallfeldt KK, Mussack T. 2005. Heavy-weight versus low-weight polypropylene meshes for open sublay mesh repair of incisional hernia. Eur J Med Res, 10 (6):247-253.
- Schreinemacher MH, Emans PJ, Gijbels MJ, Greve JW, Beets GL, Bouvy ND. 2009. Degradation of mesh coatings and intraperitoneal adhesion formation in an experimental model. Br J Surg, 96 (3):305-313.
- Schug-Pass C, Tamme C, Sommerer F, Tannapfel A, Lippert H, Kockerling F. 2008. A lightweight, partially absorbable mesh (Ultrapro) for endoscopic hernia repair: experimental biocompatibility results obtained with a porcine model. Surgical endoscopy, 22 (4):1100-1106.
- Schug-Pass C, Lippert H, Kockerling F. 2009. Fixation of mesh to the peritoneum using a fibrin glue: investigations with a biomechanical model and an experimental laparoscopic porcine model. Surg Endosc, 23 (12):2809-2815.
- Schug-Pass C, Lippert H, Kockerling F. 2010. Mesh fixation with fibrin glue (Tissucol/Tisseel) in hernia repair dependent on the mesh structure--is there an optimum fibrin-mesh combination?--investigations on a biomechanical model. Langenbecks Arch Surg, 395 (5):569-574.
- Schumpelick V, Arlt G, Klinge U. 1997a. Hernienchirurgie: Versorgung von Nabelhernie und Narbenhernie. Dt Ärztebl International, 94 (51-52):A-3471-3476.
- Schumpelick V, Arlt G, Steinau G. 1997b. Hernienchirurgie: Leistenhernien bei Erwachsenen und Kindern. Dt Ärztebl International, 94 (48):A-3268-3276.
- Schumpelick V, Klinge U, Welty G, Klosterhalfen B. 1999. Meshes within the abdominal wall. Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin, 70 (8):876-887.
- Schumpelick V, Junge K, Rosch R, Klinge U, Stumpf M. 2002. Retromuscular mesh repair for

- ventral incision hernia in Germany. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 73 (9):888-894.
- Schumpelick V, Junge K, Klinge U, Conze J. 2006. Narbenhernie – Pathogenese, Klinik und Therapie. *Dt Ärztebl International*, 103 (39):A-2553-2558.
- Seelig MH, Kasperk R, Tietze L, Schumpelick V. 1995. Enterocutaneous fistula after Marlex net implantation. A rare complication after incisional hernia repair. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 66 (7):739-741.
- Shankaran V, Weber DJ, Reed RL, 2nd, Luchette FA. 2011. A review of available prosthetics for ventral hernia repair. *Annals of surgery*, 253 (1):16-26.
- Simmermacher RK, Schakenraad JM, Bleichrodt RP. 1994. Reherniation after repair of the abdominal wall with expanded polytetrafluoroethylene. *Journal of the American College of Surgeons*, 178 (6):613-616.
- Simons MP, Aufenacker T, Bay-Nielsen M, Bouillot JL, Campanelli G, Conze J, de Lange D, Fortelny R, Heikkinen T, Kingsnorth A, Kukleta J, Morales-Conde S, Nordin P, Schumpelick V, Smedberg S, Smietanski M, Weber G, Miserez M. 2009. European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. *Hernia: the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 13 (4):343-403.
- Smart NJ, Bloor S. 2012. Durability of biologic implants for use in hernia repair: a review. *Surgical innovation*, 19 (3):221-229.
- Snyder CW, Graham LA, Vick CC, Gray SH, Finan KR, Hawn MT. 2011. Patient satisfaction, chronic pain, and quality of life after elective incisional hernia repair: effects of recurrence and repair technique. *Hernia: the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 15 (2):123-129.
- Stark GB, Horch RE, Voigt M, Tanczos E. 1998. Biological wound tissue glue systems in wound healing. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd*, 115:683-688.
- Tai HC, Lin CD, Chung SD, Chueh SC, Tsai YC, Yang SS. 2011. A comparative study of standard versus laparoendoscopic single-site surgery (LESS) totally extraperitoneal (TEP) inguinal hernia repair. *Surgical endoscopy*, 25 (9):2879-2883.
- Takaacs I, Horvath S, Molnar A, Gaspar S, Hajos R, Meczker A, Kobor P, Lantos J, Javor S, Balatonyi B, Szekeres G, Roth E, Weber G. 2011. Comparative immunohistochemical study of tissue integration of macroporous and laminar surgical meshes. *Histol Histopathol*, 26 (7):821-830.
- Tanaka K, Mutter D, Inoue H, Lindner V, Bouras G, Forgione A, Leroy J, Aprahamian M, Marescaux J. 2007. In vivo evaluation of a new composite mesh (10% polypropylene/90% poly-L-lactic acid) for hernia repair. *J Mater Sci Mater Med*, 18 (6):991-999.
- Turial S, Kreutz M, Hausser S, Enders J, Schier F. 2010. CD rats as an animal model in the

- experimental study of laparoscopic hernia repair. *Eur J Pediatr Surg*, 20 (5):330-333.
- Urban E, King MW, Guidoin R, Laroche G, Marois Y, Martin L, Cardou A, Douville Y. 1994. Why make monofilament sutures out of polyvinylidene fluoride? *ASAIO journal*, 40 (2):145-156.
- Usher FC, Ochsner J, Tuttle LL, Jr. 1958. Use of marlex mesh in the repair of incisional hernias. *The American surgeon*, 24 (12):969-974.
- Usher FC, Ochsner JL. 1960. Marlex mesh: a new polyethylene mesh for replacing tissue defects. *Surg Forum*, 10:319-323.
- Usher FC. 1970. The repair of incisional and inguinal hernias. *Surg Gynecol Obstet*, 131 (3):525-530.
- Usher FC. 1971. The repair of incisional and inguinal hernias. *Tex Med*, 67 (11):106-111.
- Usher FC. 1979. New technique for repairing incisional hernias with Marlex mesh. *American journal of surgery*, 138 (5):740-741.
- van't Riet M, Burger JW, Bonthuis F, Jeekel J, Bonjer HJ. 2004. Prevention of adhesion formation to polypropylene mesh by collagen coating: a randomized controlled study in a rat model of ventral hernia repair. *Surg Endosc*, 18 (4):681-685.
- Vandendael A, Struwig D, Nel J, Kruger T, Lombard C. 1996. Efficacy of fibrin sealant in prevention of adhesion formation on ovary surgical wounds in a rabbit model. *Gynaecological Endoscopy*, 5:169-172.
- Voskerician G, Rodriguez A, Gingras PH. 2007. Macroporous condensed poly(tetra fluoroethylene). II. In vivo effect on adhesion formation and tissue integration. *J Biomed Mater Res A*, 82 (2):426-435.
- Voskerician G, Jin J, White MF, Williams CP, Rosen MJ. 2010. Effect of biomaterial design criteria on the performance of surgical meshes for abdominal hernia repair: a pre-clinical evaluation in a chronic rat model. *J Mater Sci Mater Med*, 21 (6):1989-1995.
- Vroman L. 1987a. Methods of investigating protein interactions on artificial and natural surfaces. *Ann N Y Acad Sci*, 516:300-305.
- Vroman L. 1987b. The importance of surfaces in contact phase reactions. *Semin Thromb Hemost*, 13 (1):79-85.
- Wan YZ, Huang Y, Yuan CD, Raman S, Zhu Y, Jiang HJ, He F, Gao C. 2007. Biomimetic synthesis of hydroxyapatite/bacterial cellulose nanocomposites for biomedical applications. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems*, 27 (4):855-864.

- Wang J, Wan Y, Huang Y. 2012. Immobilisation of heparin on bacterial cellulose-chitosan nano-fibres surfaces via the cross-linking technique. *IET Nanobiotechnol*, 6 (2):52-57.
- Welty G, Klinge U, Klosterhalfen B, Kasperk R, Schumpelick V. 2001. Functional impairment and complaints following incisional hernia repair with different polypropylene meshes. *Hernia: the journal of hernias and abdominal wall surgery*, 5 (3):142-147.
- Weyhe D, Belyaev O, Buettner G, Mros K, Mueller C, Meurer K, Papapostolou G, Uhl W. 2008. In vitro comparison of three different mesh constructions. *ANZ J Surg*, 78 (1-2):55-60.
- Weyhe D. 2009. Aktueller Stellenwert von Netzen in der Hernienchirurgie. In: Obermaier R PF, Hopt UT., Hrsg. *Hernienchirurgie*. München: Elsevier Urban&Fischer, 3-12.
- Whang SH, Thaler K. 2010. Natural orifice transluminal endoscopic surgery: where are we going? *World journal of gastroenterology : WJG*, 16 (35):4371-4373.
- Williams D. 2003. Revisiting the definition of biocompatibility. *Med Device Technol*, 14 (8):10-13.
- Winkler MS, Gerharz E, Dietz UA. 2008. Overview and evolving strategies of ventral hernia repair. *Urologe A*, 47 (6):740-747.
- Wintermantel E, Mayer J, Ruffieux K, Bruinink A, Eckert KL. 1999. Biomaterials, human tolerance and integration. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin*, 70 (8):847-857.
- Wippermann J, Schumann D, Klemm D, Kosmehl H, Salehi-Gelani S, Wahlers T. 2009. Preliminary results of small arterial substitute performed with a new cylindrical biomaterial composed of bacterial cellulose. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 37 (5):592-596.
- Wulfhorst B. 1989. Polypropylene Fibres. *Chemiefaser/Textilindustrie*, 39:3-11.
- Yahchouchy-Chouillard EK, Aura T, Picone O, Etienne JC, Fingerhut A. 2003. Incisional Hernias. *Digestive Surgery*, 20 (1):3-9.
- Zhang Z, Wang Z, Liu S, Kodama M. 2004. Pore size, tissue ingrowth, and endothelialization of small-diameter microporous polyurethane vascular prostheses. *Biomaterials*, 25 (1):177-187.

**Lebenslauf**

Name:	Julian Helble	
Geburtsdatum:	24.02.1986	
Geburtsort:	Heidelberg	
Nationalität:	deutsch	
Familienstand:	ledig	
Schulische Ausbildung:	1992-1996	Heiligenberg Grundschule, Heidelberg
	1996-2005	Bunsen-Gymnasium, Heidelberg
	Abschluss: Abitur am 24.06.2005	
Universitäre Ausbildung:	2007-2009	Semmelweis Universität Budapest, Ungarn
		Studium der Humanmedizin, Vorklinik
	1999-2006	Friedrich-Schiller-Universität, Jena
		Studium der Humanmedizin, klinischer Abschnitt
	06.07.2009	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
	12.11.2013	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
	20.01.2013	Approbation als Arzt
Berufliche Tätigkeit:	Seit 07/14	Assistenzarzt, Westpfalz-Klinikum Kaiserslautern
		Klinik für Innere Medizin (Prof. Dr. med. J. Rädle)



**Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. U. Dahmen, PD Dr. O. Dirsch, PD Dr. H. Scheuerlein, Dr. T. Lehmann, Dipl.-Ing. T. Heidrich,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift

**Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei all jenen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere bei:

Herrn Prof. Dr. U. Settmacher, Direktor der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, für die Überlassung des Themas.

Frau Prof. Dr. U. Dahmen und ihrem Team (Institut für Experimentelle Transplantationschirurgie, FSU Jena), für die Bereitstellung hervorragender Arbeitsbedingungen in den Räumlichkeiten ihres Instituts. Für die Unterstützung bei der Erhebung und Interpretation von Daten bedanke ich mich bei Prof. Dr. U. Dahmen, PD Dr. O. Dirsch (Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Jena) und bei Frau Dipl.-Ing. T. Heidrich (Institut für Textilmaschinen und Textile Hochleistungswerkstofftechnik der TU Dresden).

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. H. Scheuerlein, geschäftsführender Oberarzt der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Jena. Sein immenses persönliches Engagement, seine umfassende Betreuung sowie seine hilfreichen Anregungen haben diese Promotion erst möglich gemacht. Für die stets zeitnahe Durchsicht des Manuskripts bin ich sehr dankbar.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. T. Lehmann vom Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation des Universitätsklinikums Jena für die hilfreiche Beratung bei der statistischen Auswertung der gewonnenen Daten danken.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei meiner ganzen Familie und Johannes Böttger, ohne deren Unterstützung mein eingeschlagener Weg nicht möglich gewesen wäre sowie bei Carolin Egel und meinen Freunden, die mir stets zur Seite standen.